

**Phospholipase A₂ Veränderungen und
Therapieansprechen auf atypische Neuroleptika bei
schizophrener Erstmanifestation**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Christina Kunstmann

geboren am 31.07.1979 in Saalfeld / Saale

Erster Gutachter: Prof. Dr. H. Sauer, Jena

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. C. Fleck, Jena

Dritter Gutachter: Prof. Dr. J. Lasch, Halle

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.10.2008

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	V
ZUSAMMENFASSUNG	VII
1. EINLEITUNG	1
1.1. Thematischer Prolog	1
1.2. Zielsetzung	3
2. GRUNDLAGEN	5
2.1. Die Schizophrenie	5
2.1.1. Historischer Überblick	5
2.1.2. Diagnose der Schizophrenie	6
2.1.3. Subtypen der Schizophrenie	8
2.1.4. Epidemiologie der Schizophrenie	10
2.1.5. Verlauf und Therapie	11
2.1.6. Pathogenese und Entstehungslehre	12
2.2. Die Membranlipidhypothese	16
2.3. Aufbau und Funktion zellulärer Membranen	18
2.4. Aufbau und Funktion der Phospholipide	19
2.5. Aufbau und Funktion der PUFAs	20
2.6. Die Phospholipase A ₂	21
2.6.1. Die PLA ₂ Isoformen	22
2.7. PLA ₂ und Schizophrenie	24
3. MATERIAL UND METHODEN	29
3.1. Zusammensetzung der Studiengruppe	29
3.2. Gewinnung der Proben	31
3.3. Die NBD Methode	31
3.4. Charakterisierung der gemessenen Phospholipase	33
3.5. Messablauf	34
3.6. PLA ₂ im Liquor und im Serum	36
3.7. Statistische Analyse	37
3.7.1. Verwendete Verfahren	38
3.7.2. Signifikanzniveau	39

4. AUSWERTUNG	40
4.1. Demographische Parameter	40
4.2. Aktivität der PLA ₂ und epidemiologische Parameter	40
4.3. Gruppenvergleich der PLA ₂ zwischen Patienten und Kontrollen	42
4.4. PLA ₂ -Aktivität zum Zeitpunkt W ₁₂	42
4.5. Psychopathologie und PLA ₂ -Aktivität	44
5. DISKUSSION	50
5.1. Besprechung der Ergebnisse	50
5.1.1. PLA ₂ -Gruppenvergleich (Patient vs. Kontrolle) W ₀	50
5.1.2. PLA ₂ -Aktivität und Psychopathologie W ₀	51
5.1.3. PLA ₂ -Aktivität und antipsychotische Medikation W ₀	52
5.1.4. PLA ₂ -Aktivität im Langzeit Verlauf	53
5.1.5. PLA ₂ -Aktivität und Psychopathologie W ₁₂	54
5.1.6. PLA ₂ -Aktivität und weitere epidemiologische Parameter	54
5.2. Physiologie und Pathophysiologie der PLA ₂	55
5.2.1. Bedeutung der PLA ₂ für die Membranfluidität	55
5.2.2. Bedeutung der PLA ₂ für die Neurotransmission	56
5.2.3. Bedeutung der PLA ₂ bei Apoptosevorgängen	57
5.2.4. Bedeutung der PLA ₂ bei oxidativem Stress	57
5.3. Integrierende Betrachtung der Ergebnisse	58
5.4. Erklärungsmodelle gesteigerter PLA ₂ -Aktivität bei Schizophrenie	60
5.5. Methodenkritik	62
5.5.1. Spezifität der verwendeten Methode für die Ziel-PLA ₂	62
5.5.2. Stichprobenbedingte Limitationen	63
6. RESÜMEE	65
6.1. Ausblick	67
6.1.1. Studienausblick	68
7. LITERATURVERZEICHNIS	70
8. ANHANG	78
8.1. Erhebungsbögen der Psychopathologie	78
8.1.1. Erhebungsbogen der BPRS	78
8.1.2. Erhebungsbogen der SANS	79
8.1.3. Erhebungsbogen der PANSS	80
8.1.4. Erhebungsbogen der GAF	81
8.1.5. Erhebungsbogen der SOFAS	82
8.2. Lebenslauf	83
8.3. Danksagungen	84
8.4. Ehrenwörtliche Erklärung	85

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AA	Arachidonsäure
AMPA	α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazol-Propionsäure
ANOVA	Analysis of Variance (Varianzanalyse)
ARISTO	Aristolochic Acid
ATP	Adenosintriphosphat
BAB	4-Bromophenacylbromid
BEL	Bromoenol Lacton
BODIPY	bis-BODIPY FL C ₁₁ -PC [®] (= 1,2-bis-(4,4-difluoro-5,7-dimethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene-3-undecanoyl)-sn glycerophosphocholine)
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale (Orientierende psychiatrische Fremdbeurteilungsskala)
cPLA₂	cytosolische Phospholipase A ₂
DHA	Docosahexaensäure
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4. Edition (Diagnosenmanual der amerikanischen Psychiater-Vereinigung)
DTI	Diffusor-Tensor-Imaging (Diffusions-Tensor-Bildgebung)
EBV	Epstein-Barr-Virus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EFA	Essential Fatty Acid (essentielle Fettsäure)
EGTA	Ethylenebis(oxyethylene-nitrilo)tetraessigsäure
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EPA	Eicosapentaensäure
EW	Serumeiweiß
fMRT	funktionelle Magnetresonanz-Tomographie
GAF	Global Assessment of Functioning Scale (Skala zur globalen Erfassung des Funktionsniveaus)
GTP	Guanosintriphosphat
HEPES	N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethane-sulfonic acid
HIC	Hydrophobic Interaction Chromatography
4-HNE	4-Hydroxy-2-nonenal
HPTLC	High Performance Thin Layer Chromatography (hochauflösende Dünnschichtchromatographie)
ICD-10	International Classification of Diseases, 10. Auflage (Diagnosenmanual der Weltgesundheitsorganisation)
ILI	Integrierte Licht Intensität
iPLA₂	kalziumunabhängige (independent) Phospholipase A ₂
kDa	Molekulargewicht in Kilodalton
LTP	Long Term Potentiation (Langzeitpotenzierung)
Lyso-NBD	NBD nach Abspaltung des NBD-X
M	Stoffkonzentration in Mol pro Liter
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat

NBD	NBDC ₆ -HPC [®] (2-(6-(7-nitro-benz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino-hexanoyl-1-hexa-decanoyl-sn-glycero-3-phospho-choline)
NBD-X	fluorochrome modifizierte Fettsäure des NBD
NL	Neuroleptikum
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
n.s.	nicht signifikant
OBAA	4-(4-Octadecylphenyl)-4-Oxobutenoic Acid
PAF	Platelet Activating Factor (Plättchenaktivierender Faktor)
PAG	Polyacrylamidgel
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale (Fremdbeurteilungsinstrument für positiv- und negativsymptomatische Items)
PED₆[®]	(N-((6-(2,4-dinitro-phenyl) amino-hexyl)-2-(4,4-difluoro-5,7-dimethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene-3-pentanoyl)-1-hexadecanoylsn-glycero-phosphatidyl-ethanol-amine triethylammonium salt)
pH	Wasserstoffionenkonzentration (pondus Hydrogenii)
PLA₂	Phospholipase A ₂
PLIP	PLA ₂ inhibierendes Protein
pM	Stoffmenge in Picomol
³¹P-MRS	³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
RSA	Rinderserumalbumin
SANS	Scale for the Assessment of Negative Symptoms (Fremdbeurteilungsskala für negativsymptomatische Items)
SCID-IV	Strukturiertes klinisches Interview nach DSM-IV
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SOFAS	Social and Occupational Functioning Assessment Scale (Skala zur Erfassung der sozialen und beruflichen Funktionsniveaus)
sPLA₂	sekretorische Phospholipase A ₂
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Software zur statistischen Datenauswertung)
TLC	Thin Layer Chromatography (Dünnschichtchromatographie)
UV	Ultraviolett
VBM	Voxel Basierte Morphometrie
ZNS	Zentrales Nervensystem

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung

Enzyme der Phospholipase A₂ Familie (PLA₂) katalysieren die Hydrolyse von Fettsäuren aus der sn-2-Position von Phospholipiden und sind daher von zentraler Bedeutung für die strukturelle Integrität von Zellmembranen und die Bereitstellung von Vorstufen bioaktiver Lipide, die eine Vielzahl zellphysiologischer Vorgänge vermitteln und regulieren. Die gesteigerte Aktivität bestimmter PLA₂-Enzyme bei Schizophrenie ist ein mehrfach replizierter Befund. Aufgrund der weitreichenden biochemisch-funktionellen Auswirkungen fanden PLA₂-Veränderungen Eingang in verschiedene pathophysiologische Konzepte der Schizophrenie, die u.a. Regulationsstörungen des Membranlipidstoffwechsels, der Apoptose und der antioxidativen Abwehr umfassen. Ziel dieser Studie war es, den prädiktiven Wert von PLA₂-Veränderungen für verschiedene Verlaufsaspekte der Erkrankung zu untersuchen.

Methode

Die Aktivität einer kalziumunabhängigen PLA₂ wurde im Serum von 48 ersterkrankten schizophrenen Patienten und 22 gesunden Kontrollprobanden vor und am Ende eines 12wöchigen Zeitintervalls bestimmt. Die Behandlung der initial unmedizierten Patienten erfolgte mit atypischen Neuroleptika (Olanzapin, Risperidon). Es wurde eine fluorometrische Bestimmungsmethode unter der Verwendung des PLA₂-sensitiven Substrates NBDC₆-HPC eingesetzt, bei der die Reaktionsprodukte mittels Dünnschicht-Chromatographie getrennt und die jeweilige Fluoreszenz digital gemessen und quantifiziert wurde. Psychopathologische Ratings erfolgten mittels SANS, PANSS und BPRS, die Erfassung funktioneller Parameter mittels GAF und SOFAS.

Ergebnisse

Der bekannte Befund einer gesteigerten PLA₂-Aktivität bei Schizophrenie konnte zum Zeitpunkt der Erstmessung (d.h. im unmedizierten Zustand) repliziert werden und bot die Grundlage für das gewählte Langzeitdesign. Darüber hinaus fanden sich Assoziationen zur Negativsymptomatik und zur funktionellen Beeinträchtigung zu diesem Zeitpunkt. Bezogen

auf die Therapieresponse konnten korrelative Zusammenhänge zwischen initial gesteigerter PLA₂-Aktivität und Besserung vornehmlich negativsymptomatischer Items nach 12wöchiger Behandlung gezeigt werden. Gesteigerte PLA₂-Aktivität deutet sich damit als positiver Prädiktor für das Ansprechen von Negativsymptomen und funktionellen Defiziten auf atypische Neuroleptika an.

Diskussion

Die vorliegende Studie untersucht erstmals PLA₂-Veränderungen bei Schizophrenie an einer größeren Gruppe neuroleptisch unbehandelter, ersterkrankter, schizophrener Patienten und gesunder Kontrollen. Unsere Ergebnisse unterstützen die Annahme eines gesteigerten Membranphospholipidumsatzes in der ersten akuten Phase der schizophrenen Erkrankung. Dieser Befund zeigt Assoziationen zum negativsymptomatischen Syndromanteil in dieser Erkrankungsphase und zur Therapieresponse von Negativ-Symptomen und funktionellen Beeinträchtigungen auf Atypika. Die angedeuteten Zusammenhänge zwischen Membranpathologie, Negativsyndrom und Funktionsniveau könnten zum besseren Verständnis der Pathophysiologie zum Zeitpunkt der ersten Akutmanifestation beitragen und möglicherweise künftig auch in der Therapieplanung Berücksichtigung finden.

1. EINLEITUNG

1.1. Thematischer Prolog

Rund 1% der Bevölkerung, unabhängig von Kultur, sozialem Status oder Geschlecht, erkrankt im Laufe des Lebens zumindest einmal an einer schizophrenen Episode. Die Schizophrenie ist trotz zahlreicher therapeutischer Fortschritte immer noch eine Krankheit mit ungewisser Prognose. Bei 30-40% der Ersterkrankten ist eine Residualsymptomatik mit sogenannter Negativsymptomatik (Antriebs- und Affektstörungen) und kognitiven Einbußen auch nach Rückzug der produktiv-psychotischen Symptome zu beobachten. Obwohl Faktoren wie Alter bei Ersterkrankung, akuter Beginn oder prämorbid Persönlichkeit auf die Prognose Einfluß nehmen, ist der individuelle Verlauf immer noch weitgehend unvorhersehbar. Die Schizophrenie ist aber nicht nur für den Betroffenen selbst eine schwerwiegende Erkrankung (10-12% der Patienten versterben durch Suizid), sie ist auch von erheblicher sozioökonomischer Bedeutung. Trotz über 100 Jahren Schizophrenieforschung (Kraepelin hat diese Krankheit mit dem Namen Dementia praecox erstmals 1889 beschrieben) ist die Pathogenese bis heute allenfalls in Teilen konzeptualisiert. Wie viele andere Erkrankungen ist die Schizophrenie multifaktoriell bedingt. Für die Manifestation spielen sowohl genetische Voraussetzungen als auch Umwelteinflüsse eine Rolle. Bis dato existiert kein allgemein anerkanntes Modell, welches alle bekannten Krankheitsaspekte hinreichend integriert.

Eine grundlegende Frage in der Schizophrenieforschung ist beispielsweise, in welchem Maße entwicklungsbedingte (neurodevelopmental) oder auch neurodegenerative Aspekte zur Erkrankung beitragen. Entwicklungsbedingte hirnstrukturelle Abweichungen sind z.B. an einer bei Schizophrenie veränderten Gyrfikation erkennbar (Vogeley et al. 2000). Weiterhin finden sich bei unbehandelten Patienten bereits zu Beginn der Erkrankung Erweiterungen der Seitenventrikel und strukturelle Veränderungen des präfrontalen Kortex und des Hippokampus (Andreasen 1996, Harrison 1999). Dem Entwicklungsmodell gegenüber stehen Befunde, die auch auf einen neurodegenerativen Anteil bei Schizophrenie hindeuten. So wurde mittels struktureller Kernspintomographie insbesondere für kortikale Areale eine Zunahme der Atrophie im Verlauf der Erkrankung gezeigt (DeLisi et al. 1997, DeLisi et al.

2004). Dazu passen Befunde, die bei ca. $\frac{1}{3}$ der schizophrenen Patienten post mortem eine Aktivierung der Mikroglia nachweisen (Bayer et al. 1999).

Ein möglicher Ansatzpunkt zum Verständnis hirnstruktureller Veränderungen in bestimmten Erkrankungsphasen ist die Untersuchung und Aufklärung biochemischer Korrelate dieser Abweichungen. In diesem wissenschaftlichen Kontext wurde durch David Horrobin die Membranlipidhypothese der Schizophrenie postuliert (Horrobin et al. 1994). Diese beruht auf der Annahme, daß hirnstrukturelle und funktionelle Veränderungen bei Schizophrenie ihre Ursache im gestörten Umsatz von Membranphospholipiden haben. Die Hypothese basiert erstens auf zahlreichen in-vivo-Untersuchungen cerebraler Phospholipide mittels ^{31}P -Magnetresonanz-Spektroskopie (^{31}P -MRS), zweitens auf enzymkinetischen Untersuchungen der Phospholipase A₂ (PLA₂) in post mortem Hirngewebe und Blutproben, sowie drittens auf Untersuchungen zur Konzentration mehrfach ungesättigter Fettsäuren in post mortem Hirngewebe und Blutzellmembranen. Im Hauptbefund fanden sich bei schizophrenen Patienten Hinweise für gesteigerten Membranabbau in frontalen Hirnregionen (Stanley et al. 2000), für gesteigerte PLA₂-Aktivität (Gattaz und Brunner 1996, Smesny et al. 2000) und eine Membranverarmung an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Fenton et al. 2000, Berger et al. 2002). Für die vorliegende Untersuchung wurde der Zugang zum Stoffwechsel der Phospholipide über die Phospholipase A₂ gewählt.

Die Familie der PLA₂ umfaßt inzwischen 19 verschiedene Mitglieder, die wiederum Untergruppen bilden und sich grob vereinfacht in sekretorische und cytosolische bzw. in kalziumabhängige und -unabhängige Unterformen aufteilen lassen (Sun et al. 2004). PLA₂-Enzyme sind ubiquitär vorkommende Schlüsselenzyme des Membranstoffwechsels, welche insbesondere Phospholipide abbauen, die oxidativ veränderte Fettsäurereste enthalten. Auf diese Weise werden strukturveränderte Membranbestandteile entfernt, so daß ihre Entgiftung durch andere antioxidative Schutzmechanismen erfolgen kann. Die PLA₂ spielt damit eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Zellmembranintegrität. Funktionell ist dies insbesondere für die interzelluläre Signaltransduktion von Bedeutung, da sowohl phospholidabhängige Transmitter (z.B. Prostaglandine) als auch die Quartärstruktur von Rezeptorproteinen durch die Intaktheit der Membranumgebung gewährleistet wird.

Inzwischen konnte in 6 klinischen Studien (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990, Ross et al. 1997, Lasch et al. 2003, Tavares et al. 2003, Smesny et al. 2005) im Blut schizophrener Patienten eine gesteigerte Aktivität kalziumunabhängiger PLA₂-Enzyme gegenüber gesunden Kontrollpersonen beschrieben werden, so daß vor allem diese PLA₂-Subgruppe in Zusammenhang mit schizophrenen Episoden gebracht wurde. Die biochemische Methodik

der vorliegenden Untersuchung wurde daher auf die Erfassung kalziumunabhängiger PLA₂-Enzyme ausgerichtet. Im folgenden bezieht sich der Terminus „PLA₂“, sofern nicht anders beschrieben, immer auf diese Subgruppe.

Auch im Vergleich zu nichtschizophrenen psychiatrischen Kontrollen zeigte sich die PLA₂-Aktivität erhöht (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990, Ross et al. 1999), so daß davon auszugehen ist, daß es sich bei der Aktivitätssteigerung um eine schizophreniespezifische Veränderung handelt.

Bisher weitgehend unerforscht ist ein möglicher Zusammenhang von Veränderungen der beschriebenen PLA₂-Subgruppe zu Schwere und Verlauf der Erkrankung. Es existieren lediglich zwei Arbeiten, aus denen sich korrelative Zusammenhänge zwischen der PLA₂-Aktivität und der Ausprägung psychopathologischer Symptome der Patienten andeuten (Gattaz et al. 1990, Ross et al. 1997). Gattaz et al. (1990) berichteten von einer positiven Korrelation zwischen PLA₂-Aktivität und den Summenscores der BPRS. Ross et al. (1997) konnten eine schwach positive Korrelation zwischen Positivsymptomen und der PLA₂-Aktivität nachweisen. Lediglich eine klinische Studie untersuchte bisher den Einfluß von atypischen Neuroleptika auf die PLA₂-Aktivität (Tavares et al. 2003), wobei sich eine signifikante Verringerung der Enzymaktivität nach achtwöchiger Behandlung mit Atypika zeigte. Es existiert letztlich keine Studie zur Ausprägung von PLA₂-Veränderungen und Therapieresponse unter Atypika im Langzeit-Design. Aus den Ergebnissen einer solchen Studie wären Aussagen zu prädiktiven Eigenschaften von PLA₂-Veränderungen zum Zeitpunkt der akuten Erstmanifestation zu erwarten.

1.2. Zielsetzung

Im Fokus der vorliegenden Untersuchung standen daher mögliche Interaktionen zwischen PLA₂-Aktivität und schizophrener Psychopathologie unter standardisierten Behandlungsbedingungen über einen definierten Zeitraum. Da für die subjektive Befindlichkeit, die Lebensqualität und letztlich auch die Compliance nach neueren Untersuchungen funktionelle Beeinträchtigungen mindestens ebenso bedeutsam sind wie die psychische Symptomatik ansich, wurden erstmals auch funktionelle Outcome-Parameter im Zusammenhang mit PLA₂-Veränderungen geprüft.

Untersuchungen zum Phospholipidstoffwechsel zeigten übereinstimmend, daß nur ein prozentualer Anteil von ca. 30-40% der schizophrenen Patienten von entsprechenden Veränderungen betroffen ist. Aus Langzeit-Untersuchungen und Verlaufsaspekten wären

möglicherweise neue Ansatzpunkte hinsichtlich einer biologisch fundierten Subgruppierung (Endophänotypisierung) zu erwarten.

Hierzu soll mittels einer fluorometrischen, PLA₂-sensitiven Untersuchungsmethode (Lasch et al. 2003) die Enzymaktivität im Serum ersterkrankter Schizophrener und gesunder Kontrollen im Langzeit-Design untersucht werden. Psychopathologie und Funktionsniveau der Patienten werden zum Zeitpunkt der Blutentnahme und nach 12wöchiger Behandlung mit Atypika anhand der *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS, Overall und Gorham 1962), der *Scale for the Assessment of Negative Symptoms* (SANS, Andreasen 1983), der *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS), der *Global Assessment of Functioning Scale* (GAF), und der *Social and Occupational Functioning Assessment Scale* (SOFAS, Goldman et al. 1992) erfasst. Gleichzeitig sollen demographische Variablen, Medikation, Familienanamnese sowie die Dauer der unbehandelten Psychose erfasst werden um möglichen Assoziationen zur Enzymaktivität nachzugehen.

Es wurden folgende zu prüfende Arbeitshypothesen formuliert:

1. Die Aktivität der PLA₂ ist bei schizophrenen Patienten höher als bei gesunden Kontrollen (Replikation bisheriger Befunde).
2. Die gemessene PLA₂-Aktivität korreliert mit psychopathologischen Testvariablen und der allgemeinen Schwere der Psychopathologie.
3. Die gemessene PLA₂-Aktivität korreliert mit spezifischen psychopathologischen Subsyndromen.
4. Es besteht ein korrelativer Zusammenhang zwischen der Enzymaktivität und dem Ansprechen dieser Subsyndrome auf die Therapie mit atypischen Neuroleptika (Hauptfragestellung).
5. Es bestehen korrelative Zusammenhänge zwischen der PLA₂-Aktivität und weiteren epidemiologischen Parametern (Alter, Geschlecht, Familienanamnese, Dauer der unbehandelten Psychose).

2. GRUNDLAGEN

2.1. Die Schizophrenie

2.1.1. Historischer Überblick

Das Krankheitsbild der Schizophrenie ist bereits seit dem Altertum bekannt und wurde in früheren Zeiten mit Begriffen wie Verrücktheit, Geisteskrankheit, Wahnsinn, Irresein und zahlreichen anderen Ausprägungen bezeichnet. Die ersten Aufzeichnungen über das Auftreten schizophrener Psychosen finden sich bereits aus dem Zeitraum um 2000 v. Chr. (Nasrallah und Smeltzer 2003). Im 1. Jahrhundert n. Chr. beschrieb Aretaeus von Kappadozien bereits den Unterschied zwischen Patienten mit einer damals als Mania genannten Erkrankung und solchen, die als „verblödet, geistesabwesend und versponnen“ bezeichnet wurden. Nach dieser frühen Ära vorurteilsfreien klinischen Interesses und ernsthafter Behandlungsversuche verschwand die Schizophrenie für mehr als 1000 Jahre im Dunkel von Aberglaube und religiöser Verklärung (Freedmann 1984). Erst im 18. Jahrhundert begann man wieder, Menschen mit Geisteskrankheiten zu behandeln, statt sie nur in Irrenasylen zu bewahren, in Kerker zu werfen oder sie als Teufelsbesessene auf dem Scheiterhaufen zu verbrennen.

Klinische Beobachtungen und methodische Erwägungen bereiteten den Weg für die Entwicklung eines einheitlichen Konzeptes Ende des 19. Jahrhunderts. 1865 prägte der belgische Psychiater Benedict Morel den Namen „démence précoce“ für einen 14-jährigen Jungen, der Symptome wie Apathie, emotionale Labilität, Rückzug und Mutismus aufwies (Freedmann 1984, Nasrallah und Smeltzer 2003). Ende des 19. Jahrhunderts und zu Beginn des 20. Jahrhunderts beschäftigten sich verschiedene Ärzte unabhängig voneinander mit dem Krankheitsbild. Hecker veröffentlichte Arbeiten über das „Jugendirresein“ (Hebephrenie) und Kahlbaum beschrieb das „Spannungsirresein“ (Katatonie). 1893 prägte der deutsche Arzt und Forscher Emil Kraepelin den Schizophreniebegriff und verwies auf eine Zweiteilung der endogenen Psychosen. Kraepelin grenzte die „Dementia praecox“ von der manisch-depressiven Psychose ab. Die „Dementia praecox“ manifestierte sich im zweiten und dritten Lebensjahrzehnt und zeigte einen progredienten und ungünstigen Verlauf mit dem Ergebnis des dementiellen Abbaus in jungen

Jahren (Kraepelin 1919). Die Beeinträchtigung des Intellekts, Wahn, Halluzinationen, psychomotorische Störungen, Affektverflachung, Antriebsminderung und soziale Isolation waren für ihn einige der vielfältigen charakterisierenden Symptome. Kraepelin führte sie auf eine (gemeinsame) Störung zurück und betrachtete sie in ihrer Gesamtheit als Krankheitsbild. Als ursächliches Prinzip der Erkrankung nahm er eine krankhafte Veränderung kortikaler Neurone an und wies somit bereits den Weg zu einem biologischen Erklärungsansatz. Den modernen Schizophreniebegriff prägte der schweizer Psychiater Eugen Bleuler. Er beschrieb Assoziationslockerung, Affektstörung, Autismus und Ambivalenz (die 4 „A“) als die Grundsymptome der Schizophrenie und stellte akzessorische Symptome, wie Sinnestäuschung, Wahnphänomene und katatone Symptome dem gegenüber (Bleuler 1911). Außerdem differenzierte er Subtypen der Erkrankung mit typischen Symptomkonstellationen, beispielsweise die Schizophrenia simplex. 1931 führte Kurt Schneider ein weiteres Diagnosemodell ein. Bei ihm standen vorwiegend die Wahrnehmungsstörungen im Vordergrund. Er unterschied Symptome 1. und 2. Ranges sowie schizophrene Ausdrucksstörungen. Wesentliche Kriterien für die modernen Klassifikationssysteme ICD-10 (International Classification of Diseases, gegenwärtig in der 10. Auflage) bzw. DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, in der vierten Edition) leiten sich von den Konzepten Kraepelins und Bleulers ab, ergänzt durch die Erstrangsymptome der Schizophrenie von Schneider.

2.1.2. Diagnose der Schizophrenie

Die Diagnosestellung einer Schizophrenie erfolgt bis heute anhand der genauen Erfassung psychopathologischer Phänomene im Quer- und Längsschnitt. In Deutschland wird vereinbarungsgemäß den in der ICD-10 niedergelegten Kriterien gefolgt. Da es sich in der vorliegenden Arbeit um australische Patienten handelt, sei auf die dort üblichen Diagnostikriterien des DSM-IV hingewiesen.

Aufgrund unterschiedlicher diagnostischer Traditionen bleibt es nicht aus, daß in der ICD-10 und im DSM-IV Unterschiede in der klassifikatorischen Zuordnung und in den jeweiligen diagnostischen Kriterien auftreten. So sind ICD-10 Schizophrenien deutlich häufiger als DSM-IV Schizophrenien. Dagegen wird die schizophreniforme Störung nach DSM-IV häufiger diagnostiziert als ihr ICD-10 Äquivalent (Hiller et al. 1993). Dies liegt daran, daß die DSM-IV eine Mindestdauer der Symptomatik von mindestens sechs Monaten vorschreibt, wohingegen bei der ICD-10 ein Monat ausreicht um eine Schizophrenie zu diagnostizieren. Eine Gegenüberstellung der beiden Diagnosesysteme ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: allgemeine diagnostische Kriterien der Schizophrenie. Modifiziert nach Möller 2003.

ICD-10	DSM-IV
Symptomatologie	
<p>1. Mindestens eines der folgenden Merkmale</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug oder Gedankenausbreitung b) Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten, deutlich bezogen auf Körper- oder Gliederbewegungen, bestimmte Gedanken, Tätigkeiten, Empfindungen und Wahnwahrnehmungen c) kommentierende oder dialogische Stimmen, die über die Patienten reden oder andere Stimmen, die aus bestimmten Körperteilen kommen d) anhaltender kulturell unangemessener, bizarrer Wahn, wie der, das Wetter kontrollieren zu können oder mit Außerirdischen in Verbindung zu stehen <p>2. Oder mindestens 2 der folgenden Merkmale</p> <ul style="list-style-type: none"> a) anhaltende Halluzinationen jeder Sinnesmodalität, täglich während mindestens eines Monats, begleitet von flüchtigen oder undeutlichen Wahngedanken ohne deutliche affektive Beteiligung oder begleitet von lang anhaltenden überwertigen Ideen b) Neologismen, Gedankenabreißen, Zerfahrenheit oder Danebenreden c) katatone Symptome (Erregung, Haltungsstereotypien oder wächserne Biegsamkeit (Flexibilitas cerea), Negativismus, Mutismus, Stupor) d) „negative“ Symptome wie auffällige Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte (es muss sichergestellt sein, daß diese Symptome nicht durch eine Depression oder eine neuroleptische Mediaktion verursacht werden) 	<p>Mindestens zwei der folgenden charakteristischen Symptome sind für die Diagnose erforderlich. Wenn bizarre Wahninhalte oder akustische Halluzinationen in Form von kommentierenden oder dialogisierenden Stimmen vorliegen, reicht ein Symptombereich aus.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Wahn 2. Halluzinationen 3. desorganisierte Sprechweise 4. massiv desorganisiertes oder katatones Verhalten 5. negative Symptome, d.h. Affektverflachung, Sprachverarmung oder Apathie <p>In den Bereichen Arbeit, soziale Beziehungen und Selbstständigkeit ist die Leistungsfähigkeit unter das höchste Niveau, das vor der Erkrankung erreicht wurde, gesunken.</p>
Zeitkriterien	
<ul style="list-style-type: none"> • Während der meisten Zeit innerhalb eines Zeitraums von <u>mindestens einem Monat</u> (oder während einiger Zeit an den meisten Tagen) sollte eine psychotische Episode mit entweder mindestens einem der unter 1. aufgeführten Syndrome, Symptome oder Anzeichen oder mit mindestens zwei der unter 2. aufgeführten Symptome und Anzeichen bestehen. • Wären sie nur kürzere Zeit, ist eine akute, schizophreniforme psychotische Störung zu diagnostizieren. 	<ul style="list-style-type: none"> • Da im DSM-IV Verlaufsaspekte eingebunden sind, gilt erst ein kontinuierlicher Erkrankungszeitraum von <u>mehr als halbjähriger Dauer</u> als Schizophrenie, bei kürzer währender Symptomatik spricht man von einer schizophreniformen Störung. • Diese 6monatige Periode muß mindestens einen Monat mit Symptomen umfassen, die das Kriterium A (d.h. floride Symptome) erfüllen und kann Perioden mit prodromalen oder residualen Symptomen einschließen.
Ausschlußkriterien	
<ul style="list-style-type: none"> • Schizophrenie soll nicht diagnostiziert werden bei ausgeprägten depressiven oder manischen Symptomen, es sei denn die schizophrene Symptomatik wäre der affektiven vorausgegangen. • Die Störung kann nicht einer organischen Gehirnerkrankung oder einer Alkohol- oder Substanzintoxikation, einem Abhängigkeitssyndrom oder einem Entzugssyndrom zugeordnet werden. 	<ul style="list-style-type: none"> • Eine schizoaffective und eine affektive Störung mit psychotischen Merkmalen wurden ausgeschlossen. • Das Störungsbild geht nicht auf die direkte körperliche Wirkung einer Substanz (z.B. Droge, Medikamente) oder eines medizinischen Krankheitsfaktors zurück.

2.1.3. Subtypen der Schizophrenie

Klassifikation nach ICD-10 und DSM-IV

Sowohl in der ICD-10 als auch im DSM-IV werden die paranoide, die hebephrene bzw. desorganisierte, die katatone und die undifferenzierte Unterform schizophrener Psychosen definiert. In der ICD-10 werden zusätzlich noch die „postschizophrene Depression“ sowie die „Schizophrenia simplex“ definiert, für die im DSM-IV keine entsprechenden Diagnosen vorhanden sind. Für die Diagnose einer dieser Unterformen müssen die bereits erwähnten allgemeinen Schizophreniekriterien (Tabelle 1) erfüllt sein. Die Klassifikation in eine bestimmte Unterform erfolgt aufgrund der querschnittsmäßig zu beobachtenden Symptomatik. Eine Stabilität der Symptomatik über einen längeren Zeitraum ist nicht gefordert. So ist oftmals ein Wechsel oder eine Kombination paranoid-(halluzinatorischer), katatoner oder desorganisierter Symptome zu beobachten (Marneros et al. 1995). Bei der in dieser Studie untersuchten Population handelt es sich ausschließlich um Patienten mit einer paranoid-halluzinatorischen Schizophrenie. Dies ist die in den meisten Teilen der Welt häufigste Untergruppe schizophrener Psychosen (43%, Deister und Marneros 1994) und diejenige Unterform, die das Bild dieser Erkrankung lange Zeit am meisten geprägt hat. Das klinische Bild wird von meist lang anhaltenden und systematisierten Wahnideen beherrscht, die evtl. von halluzinatorischen Erlebnissen begleitet sind. Das alleinige Vorkommen halluzinatorischer Erlebnisse ist zwar möglich, jedoch deutlich seltener. Weitere schizophrene Symptome, insbesondere formale Denkstörungen, negative oder katatone Symptome, sind bei dieser Form ebenfalls nachweisbar, stehen aber nicht im Vordergrund des klinischen Bildes (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: diagnostische Kriterien der paranoide Schizophrenie. Möller 2003.

ICD-10	DSM-IV
<p>A) Die allgemeinen Kriterien für Schizophrenie müssen erfüllt sein.</p> <p>B) Halluzinationen oder Wahnphänomene müssen vorherrschen (Verfolgungswahn, Beziehungswahn, Abstammungswahn, Sendungswahn, zonästhetischer oder Eifersuchtswahn, drohende oder befehlende Stimmen, Geruchs- oder Geschmackshalluzinationen, sexuelle oder andere körperliche Sensationen).</p> <p>C) Verflachter oder inadäquater Affekt, katatone Symptome oder Zerfahrenheit dominieren das klinische Bild nicht. Alle diese Phänomene können jedoch in leichter Form vorhanden sein.</p>	<p>A) Starke Beschäftigung mit einem oder mehreren Wahnsymptomen oder häufige akustische Halluzinationen.</p> <p>B) Keines der folgenden Merkmale steht im Vordergrund: desorganisierte Sprechweise, desorganisiertes oder katatones Verhalten oder verflachter oder inadäquater Affekt.</p>

Klassifikation nach Positiv- und Negativsymptomen

Sowohl Kraepelin als auch Bleuler bezeichneten negative Symptome als zentrale Symptome der Schizophrenie. Während Kraepelin die floriden Symptome der psychotischen Episode und die Defizitsymptome der Residuen dem gleichen pathophysiologischen Geschehen zuordnete, unterschied Eugen Bleuler (1911) erstmals zwischen Grundsymptomen, die er als direkten Ausdruck des Krankheitsprozesses, und akzessorischen oder Sekundärsymptomen, die er als Reaktion auf die Primärsymptome verstand. Grundsymptome waren solche, die aus der Dissoziation der Affektivität, der Aufmerksamkeit, des Willens und der Person z.B. als Ambivalenz, Autismus, Denkstörung und Demenz entstanden. Wahn und Halluzinationen betrachtete E. Bleuler als nichtspezifische Sekundärsymptome. Aufgrund des Einflusses von Schneider, der die Erstrangsymptome (Wahnwahrnehmung, dialogisierende akustische Halluzinationen, Gedankenlautwerden, Gedankenentzug, Gedankeneingebung, Gedankenausbreitung, andere Beeinflussungserlebnisse mit dem Charakter des Gemachten) als spezifisch für die Schizophrenie betonte, trat dieses Konzept jedoch in den Hintergrund. Erst 1974 führten Strauss, Carpenter und Bartko die Unterscheidung von positiven und negativen Symptomen der Schizophrenie wieder in die Diskussion ein. Sie glaubten, daß beide Symptomdimensionen unabhängige Prozesse der Krankheit mit unterschiedlicher pathophysiologischer Bedeutung repräsentieren (Strauss et al. 1974).

Zu den Positivsymptomen zählen Halluzinationen, Wahn, bizarre Verhaltensweisen und formale Denkstörungen. Als Negativsymptome werden Antriebsarmut, Affektverflachung, Alogie, Apathie, Anhedonie und Aufmerksamkeitsstörungen bezeichnet. Es resultierte die Differenzierung in Typ-I und Typ-II Schizophrenie. Der Typ I umfasste Krankheitsbilder mit Plussymptomatik (Positivsymptome), gutem prämorbidem Funktionsniveau, akutem Beginn, gutem Ansprechen auf die medikamentöse Therapie und günstigem Verlauf. Den Typ II charakterisiert die vorherrschende Minussymptomatik (Negativsymptome), ein schlechtes prämorbides Funktionsniveau, schleichender Beginn, schlechtes Ansprechen auf die medikamentöse Therapie und eine schlechte Prognose (Berger 2004).

Die Unterscheidung in Positiv- und Negativsymptome erlangte vor allem Bedeutung mit der Entdeckung, daß Positivsymptome gut auf Neuroleptika der 1. Generation ansprechen, also auf typische Neuroleptika, wohingegen die Negativsymptomatik, weniger gut zu behandeln ist. Seit der Anwendung neuerer neuroleptisch wirkender Medikamente, sogenannter atypischer Neuroleptika, wird auch die Negativsymptomatik mit der Medikation erreicht.

Klassifikation nach Endophänotypen

Gegenstand aktueller wissenschaftlichen Bestrebungen ist die Einteilung psychischer Erkrankungen auf Grundlage biologischer Befunde. Auch die vorliegende Arbeit folgt mit der Bestimmung der PLA₂-Aktivität diesem Anliegen. Die Erfassung von biologischen Normabweichungen, welche auch schon vor Krankheitsausbruch (d.h. bei phänotypisch Gesunden) zu beobachten sind, erlaubt die Definition sogenannter Endophänotypen. Diese umfassen letztlich Personengruppen mit genetisch einheitlichem Risikoprofil, d.h. vergleichbarer Vulnerabilität zur Ausprägung der Erkrankung (siehe dazu Abbildung 1). Klinische Bedeutsamkeit erlangt die Differenzierung in Endophänotypen im Hinblick auf die Früherkennung bzw. Frühintervention sowie biologisch fundierte Prognosebeurteilung bei schizophrenen Störungen.

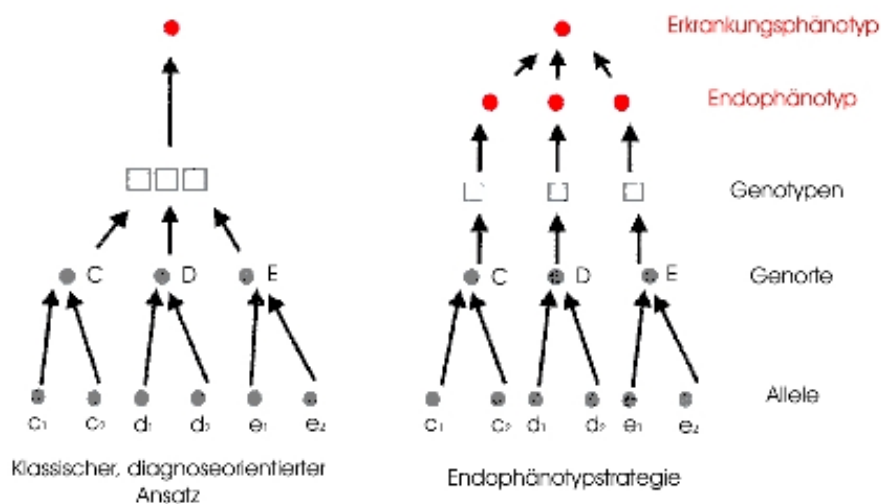


Abbildung 1: Endophänotypmodell nach Zobel und Maier 2004. Hierbei wird nach neurobiologisch definierten Variablen gesucht, welche eine biologisch fundierte Klassifikation (Endophänotypisierung) bei komplexen, phänomenologisch einheitlichen Erkrankungsphänotypen erlauben.

2.1.4. Epidemiologie der Schizophrenie

Angaben zur Epidemiologie schizophrener Psychosen sind nur unter dem Vorbehalt methodologischer Schwierigkeiten möglich. Diese Einschränkung beruht (trotz operationalisierter Methoden) auf unterschiedlichen Krankheitskonzepten und -kriterien in verschiedenen Ländern. So ist die Erhebung vergleichbarer Zahlen erschwert. Dennoch weisen die meisten Studien kultur- und länderübergreifend nahezu stabile Kenndaten für schizophrene Psychosen nach.

Bislang ist keine Population bekannt, in der die Schizophrenie nicht oder extrem selten vorkommt (Jablensky 1995). Die Anzahl neuer Krankheitsfälle pro Jahr bezogen auf die

jeweilige Population beträgt zwischen 0,1% und 0,4% (je nach Schizophreniedefinition). Die Prävalenz bezogen auf 1000 Menschen der Allgemeinbevölkerung beträgt 1,4 – 4. Das Lebenszeitrisko, also das Risiko zwischen dem 18. und 45. Lebensjahr an einer Schizophrenie zu erkranken, liegt bei etwa 1% (Gastpar et al. 2003). Andere Untersuchungen beschrieben ergänzend zu diesen Daten ein Nord-Süd-Gefälle der Prävalenzraten (Christensen und Christensen 1988, Nashrallah und Smeltzer 2003). Das Geschlechterverhältnis ist annähernd gleich. Allerdings liegt der Beginn der Erkrankung beim männlichen Geschlecht im Alter zwischen 15 und 25 Jahren, Frauen erkranken durchschnittlich 3 - 4 Jahre später (Hauteau et al. 2006). Geschlechtsspezifische Unterschiede bestehen bezüglich Verlauf, Hospitalisierung und Ansprechen auf Neuroleptika, hier sind die weiblichen Patienten im Vorteil (Nashrallah und Smeltzer 2003). Ein protektiver Einfluß der weiblichen Geschlechtshormone wird als Ursache dieser geschlechtsspezifischen Unterschiede diskutiert (Häfner und an der Heiden 1997). Schizophrene Patienten finden sich scheinbar gehäuft in unteren sozialen Schichten. Es wurde angenommen, daß die Manifestation der Schizophrenie durch höhere Belastungen in unteren sozialen Schichten begünstigt wird. Allerdings haben prospektive epidemiologische Studien gezeigt, daß die schizophrene Erkrankung selbst zu einem sozialen Abstieg führt. Dieses Phänomen ist als „Drift-Theorie“ bekannt geworden (Naber und Lambert 2004).

2.1.5. Verlauf und Therapie

Die Symptomatik einer schizophrenen Psychose beginnt in aller Regel deutlich vor der ersten Hospitalisierung in einer stationären Behandlungseinrichtung. Bei den ersten Symptomen der Erkrankung handelt es sich meistens um weitgehend unspezifische Beschwerden, die im Durchschnitt etwa vier Jahre vor der ersten stationären Aufnahme auftreten. Die ersten auf die Diagnose einer Schizophrenie hinweisenden Symptome sind etwa zwei Jahre später und damit etwa auch zwei Jahre vor der ersten stationären Aufnahme nachweisbar (Häfner 1995). Etwa 70% der Patienten mit einer schizophrenen Erkrankung zeigen zu Beginn negative Symptome, bei 20% kommt es etwa gleichzeitig zu negativen und positiven Symptomen und nur bei 10% der Patienten stehen positive Symptome von Beginn an im Vordergrund (Häfner 1995). Bei den zehn häufigst gefundenen initialen Symptomen handelt es sich um unterschiedliche negative und insbesondere auch affektive Symptome. Am häufigsten finden sich Unruhe und eine depressive Symptomatik (jeweils 19%), gefolgt von Ängstlichkeit (18%), Problemen mit dem Denken und der Konzentrationsfähigkeit (16%), Grübeln (15%), vermindertem Selbstvertrauen (13%) und Antriebsminderung (12%) (Häfner und an der

Heiden 1999). Bei der Mehrzahl der Patienten mit einer schizophrenen Psychose kommt es bei langjährigem Krankheitsverlauf zu mehr als einer Episode. Schizophrene Psychosen sind ihrer Natur nach rezidivierende Erkrankungen. Die Zahl der Patienten, die während des gesamten Krankheitsverlaufes nur eine einzige abgrenzbare Krankheitsepisode aufweist, ist nach den Ergebnissen der meisten Langzeitstudien gering (Marneros et al. 1991). Hinsichtlich der psychischen Langzeitfolgen läßt sich sagen, daß nur ca. 22% der Patienten eine Vollremission, 43% ein uncharakteristisches und 35% ein charakteristisches Residuum aufweisen. Das uncharakteristische Residuum ist hauptsächlich durch eine kognitive und dynamische Insuffizienz gekennzeichnet, die in der Regel mehr für den Patienten als für den Untersucher bemerkbar ist und querschnittsmäßig nicht für die Diagnose Schizophrenie ausreicht. Dies trifft hingegen für das charakteristische Residuum zu, bei dem sich insbesondere auch Eugen Bleulers Grundsymptome wie Denkzerfahrenheit, Parathymie und Autismus sowie Kurt Schneiders Erst- und Zweitrangsymptome finden können. Die letzte Gruppe ist praktisch lebenslang beeinträchtigt und muß vergleichsweise häufig hospitalisiert werden.

Seit der Einführung des ersten Neuroleptikums Chlorpromazin im Jahre 1952 war erstmals eine sinnvolle medikamentöse Therapie schizophrener Patienten verfügbar. Dies zeigt sich beispielsweise daran, daß nach Einführung der Neuroleptika die Zahl hospitalisierter, insbesondere dauerhospitalisierter Patienten erheblich verringert werden konnte (Davis und Casper 1977). Durch die heutigen Behandlungsmöglichkeiten hat sich die Prognose also deutlich verbessert. Die verfügbare Medikation vermag dem Patienten nunmehr einige der Symptome zu erleichtern, allerdings gelingt damit keine Heilung der Schizophrenie im engeren Sinne. Weiterhin sprechen nicht alle Patienten auf die neuroleptische Therapie an. Etwa 20-30% der Patienten erreichen keine Besserung auf das zuerst verabreichte Neuroleptikum (Möller 2003). Bis heute nimmt die Krankheit noch bei mehr als 50% der Betroffenen einen ungünstigen Verlauf mit Rezidiven und Residualsymptomatik sowie erheblichen Störungen der sozialen Integration (Möller 2003). Jeder zehnte Patient, der mit der Diagnose einer schizophrenen Psychose mindestens einmal stationär behandelt wurde, verstirbt durch Suizid (Berger 2004).

2.1.6. Pathogenese und Entstehungslehre

Nach dem heutigen Forschungsstand sind schizophrene Psychosen multifaktoriell bedingte Erkrankungen, zu denen eine Vielzahl neuroanatomischer, neurochemischer, neuropsychologischer und genetischer Befunde vorliegen. Bis zum heutigen Tage ist es trotz

intensiver Forschung nicht gelungen, die ursächliche Pathophysiologie in ihrer Gesamtheit zu erfassen. Als gesichert gelten bisher bestimmte Risikofaktoren, die das Ausbrechen schizophrener Psychosen begünstigen und einen negativen Einfluß auf den Verlauf der Erkrankung nehmen. So zeigte sich in zahlreichen Studien bei schizophrenen Patienten eine erhöhte Rate von Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen, wie z.B. Präeklampsie, Rhesusfaktorenunverträglichkeit, Mangelernährung der Mutter während der Schwangerschaft, Hypoxie während der Geburt oder eine Frühgeburt (McNeil et al. 2000). Als weiterer Risikofaktor gilt die Geburt in städtischer Umgebung. Überzufällig häufig werden schizophrene Patienten in urbanen Ballungsräumen geboren. Dabei ist unklar, inwieweit postnatale Einflüsse auf die Ausprägung der Erkrankung Einfluß nehmen (van Os et al. 2004). Außerdem werden in den Wintermonaten etwa 10% mehr Patienten mit Schizophrenie geboren als im Sommer. Zurzeit wird eine erhöhte Infektionsrate im Herbst und Winter in Städten und das damit verbundene Risiko maternaler Infektionen als Erklärung favorisiert.

Weiterhin spielt die Genetik bei der Entstehung der Schizophrenie eine wichtige Rolle. Diese Annahme basiert auf Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien, aus denen klar hervorgeht, daß das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, eng mit dem Verwandtschaftsgrad zu einem bereits erkrankten Familienmitglied korreliert (Häfner 2000). Die Konkordanzraten für monozygote Zwillinge liegen bei 45-50%, die für dizygote dagegen bei ca. 17%. Der genaue Mechanismus der Vererbung ist nicht bekannt. Bis heute ist es auf der Basis von Chromosomenanalysen noch nicht gelungen, ein einzelnes, für die Schizophrenie charakteristisches Gen auszumachen. Wahrscheinlich ist, daß additive Effekte verschiedener Gene sowie epigenetische Besonderheiten bei der Krankheitsentstehung eine Rolle spielen (Sobell et al. 2002). Eine erhöhtes Erkrankungsrisiko haben Verwandte von Patienten daher entsprechend dem Anteil der durchschnittlich gemeinsamen Gene. Daß die genetische Ebene zur Erklärung der Schizophrenie nicht ausreicht, ergibt sich aus den unvollständigen Konkordanzraten monozygoter Zwillinge. Bei ausschließlicher Erbbedingtheit wäre eine vollständige Konkordanz eineiiger Zwillinge zu erwarten. Diese Tatsache spricht für die Komplexität der Erkrankung auch auf DNA-Ebene. Nichtsdestotrotz wird die Erbanlage heute als bestimmender Faktor einer Disposition angesehen, zu der aber noch andere schädigende Einflüsse hinzutreten müssen, damit es zum Ausbruch der Erkrankung kommt. Diese Vorstellung entspricht dem Vulnerabilitäts-Stress-Modell, wie es in Abbildung 2 dargestellt ist (Nüchterlein et al. 1994). Die Vulnerabilität wird dabei sowohl auf die genetischen Abweichungen zurückgeführt als auch auf entwicklungsbedingte Faktoren, wie z.B. die angesprochenen Geburts- und Schwangerschaftskomplikationen. Zusätzlich zu diesem

prämorbidem Risiko bedarf es der Wirkung weiterer psychosozialer Stressoren (z.B. Interaktionen in komplexen Beziehungen, Bewältigung anspruchsvoller Aufgaben, intensive emotionale Beziehungen), damit es zum Ausbruch der Erkrankung kommt. Somit kann es je nach Vulnerabilitätsniveau und Stärke der Stressoren früher oder später zum Auftreten von ersten Krankheitssymptomen kommen (Häfner 2000).

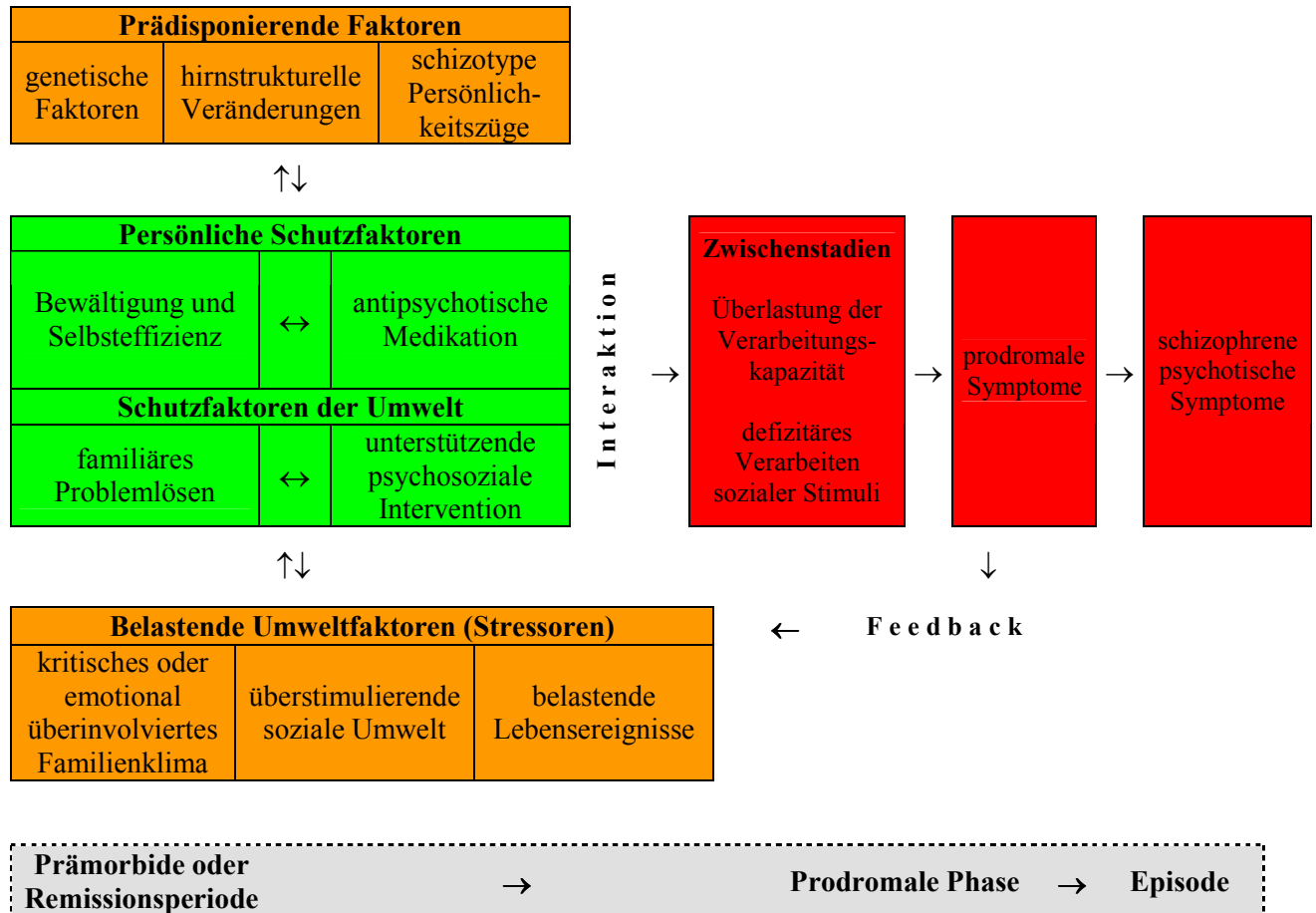


Abbildung 2: Vulnerabilitäts-Stress-Modell (Möller 2003). Je nach Vulnerabilitätsniveau und Stärke der Stressoren (orange) kommt es zum Auftreten prodromaler bzw. psychotischer Symptome (rot). Das soziale Netz bzw. die patienteneigenen Bewältigungsmöglichkeiten (grün) wirken hierbei der Krankheitsmanifestation entgegen.

Nach dem Entwicklungsmodell der Schizophrenie (dem sogenannten „Neurodevelopmental Model“) äußert sich die beschriebene Vulnerabilität in einer mehrschrittigen, pränatal beginnenden Störung der Hirnentwicklung mit Ausprägung hirnstruktureller, neurophysiologischer bzw. biochemischer Alterationen. Diese Abweichungen bilden das Korrelat für funktionelle Störungen in neuronalen Kreisläufen, welche als Basis für die spätere Entstehung schizophrener Symptome gelten (Woods 1998).

Für eine zerebrale Entwicklungsstörung im Embryonal- oder Fetalstadium sprechen zahlreiche Befunde:

- Zytoarchitektonische Auffälligkeiten in verschiedenen Hirnregionen, z.B. die veränderte Position von Neuronen im orbitofrontalen und entorhinalen Kortex, was für eine Migrationsstörung in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft spricht (Beckmann und Jakob 1994, Beckman 2002).
- Die fehlende Astroglie in den post mortem Hirnen Schizophrener (Falkai et al. 1999). Eine Glieose gilt als Marker für den Nervenzelltod bei neurodegenerativen Erkrankungen. Da die gliöse Reaktion erst im zweiten Trimenon auftritt, könnte die fehlende Glieose auch auf einen Prozess im ersten Trimenon hinweisen (Norman 1996).
- Die bereits bei Ersterkrankten vorliegenden morphologischen Veränderungen und die subtilen motorischen, kognitiven und emotionalen Auffälligkeiten im Kindesalter bei später schizophren erkrankten Patienten (sogenannte „Softsigns“).

Es gilt als unwahrscheinlich, daß bereits bei der sehr frühen Neurogenese, also der Ausbildung des Neuralrohres, eine Störung auftritt, da bisher keine Verbindung zwischen Neuralrohrdefekten (z.B. spina bifida) und Schizophrenien berichtet wurde (Keshavan 1999). Wahrscheinlicher ist, daß Prozesse, wie Apoptose, neuronale Migration und synaptische Proliferation, welche während des zweiten Trimenon beginnen, bei der Schizophrenieentstehung eine Rolle spielen (Keshavan 1999). Die Manifestation der Erkrankung im frühen Erwachsenenalter wird dadurch erklärt, daß zu diesem Zeitpunkt die kortikale Reifung mit verschiedenen Vorgängen wie der Synapsenbildung und -eliminierung abgeschlossen wird (dem sogenannten „Pruning“, selektives Ausdünnen kortikokortikaler und kortikosubkortikaler Synapsen während der Hirnreifung) und daher subtile strukturelle Läsionen unter den erhöhten Anforderungen dieser Lebensphase manifest werden. Diese führen zu Unterbrechungen neuronaler Kreisläufe zwischen verschiedenen kortikalen, limbischen und eventuell weiteren Hirnstrukturen (Feinberg 1992). Diese Annahme deckt sich auch mit dem Dyskonnektivitätsmodell der Schizophrenie, bei dem ein Defekt angenommen wird, der die Kommunikation einzelner Hirnareale untereinander betrifft (Weinberger und Lipska 1995). Strukturelle Änderungen der anatomischen Konnektivität zwischen frontalen und parieto-temporalen Sprachgebieten wurden inzwischen mittels Diffusor-Tensor-Imaging (DTI) gezeigt, wobei die Alterationen in der weißen Substanz (welche bekanntlich die axonalen und dendritischen Verbindungen der Neurone untereinander darstellt) mit dem Auftreten von akustischen Halluzinationen assoziiert waren (Hubl et al. 2004). Eine Abnahme

der funktionellen Konnektivität bei Schizophrenen konnte in mehreren fMRT-Studien nachgewiesen werden (Lawrie et al. 2002).

Dem Entwicklungsmodell gegenüber stehen Konzepte, die zumindest im späteren Krankheitsverlauf auch neurodegenerative Prozesse einbeziehen. So wurde mittels struktureller Kernspintomographie insbesondere für kortikale Areale eine Zunahme der Atrophie im Verlauf der Erkrankung gezeigt (DeLisi et al. 2004). Weitere Studien zeigten eine Größenzunahme der Ventrikel bei zunehmender Krankheitsdauer, was ebenfalls für einen fortschreitenden pathophysiologischen Prozess spricht (Okubo et al. 2001). Die Ventrikelerweiterung bei Schizophrenen überschneidet sich allerdings mit der Varianz in der Normalbevölkerung. Magnetresonanztomographisch fanden sich auch andere anatomische Deviationen, wie die Erweiterung der inneren Liquorräume, eine Volumenverminderung des Frontallappens oder auch eine Verminderung des Gesamthirnvolumens schizophrener Patienten gegenüber gesunden Kontrollen (Okubo et al. 2001).

Seit längerer Zeit wird versucht, anhand von wissenschaftlich objektivierbaren Abweichungen ein geeignetes biologisches Modell für die hirnstrukturellen und funktionellen Abweichungen bei Schizophrenie auszuarbeiten. Als biochemisches Korrelat von Hirnentwicklungs- und Hirnreifungsstörungen wurde 1994 durch David Horrobin die Membranlipidhypothese der Schizophrenie postuliert (Horrobin et al. 1994).

2.2. Die Membranlipidhypothese

Mit der Membranlipidhypothese wird der Tatsache Rechnung getragen, daß Phospholipide für die strukturelle und funktionelle Intaktheit membrangebundener Abläufe im ZNS von fundamentaler Bedeutung sind. Phospholipide bestehen in ihrer Gesamtheit zu 30-60% aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PolyUnsaturated Fatty Acids, PUFA). Der PUFA-Anteil am Trockengewicht des menschlichen Gehirns beträgt zwischen 15-30% (Peet 2002).

Wesentliche Bedeutung für die Entwicklung der Phospholipidhypothese haben epidemiologische Studien zu Ernährungsgewohnheiten bei schizophrenen Erkrankungen:

- In einer retrospektiven Analyse wurden anhand von WHO-Daten Zusammenhänge zwischen den national determinierten Ernährungscharakteristika unterschiedlicher Länder und dem entsprechenden Verlauf schizophrener Erkrankungen untersucht. Es ergab sich ein deutlich besserer klinischer Verlauf bei Patienten aus Ländern, in denen ein höherer Nahrungsgehalt an Pflanzen- und Fischölen (reich an ungesättigte Fettsäuren) traditionell üblich ist (Christensen und Christensen 1988).

- Größere Ernährungsdefizite an essentiellen Fettsäuren, besonders Defizite während der Schwangerschaft und frühen Kindheit gelten als begünstigender Faktor für die Ausprägung schizophrener Erkrankungen (Brown et al. 1996). Im Zusammenhang mit dieser Überlegung steht die Beobachtung, daß Stillen (Muttermilch ist reich an essentiellen Fettsäuren) Schutz vor der Entwicklung einer schizophrenen Erkrankung zu bieten scheint (McCreadie 1997).

Heute ist zusätzlich durch zahlreiche empirische und experimentelle Studien unterlegt, daß in Phospholipiden der Zellmembranen schizophrener Patienten signifikant geringere Mengen mehrfach ungesättigter Fettsäuren enthalten sind. Eine relative Verarmung an PUFA wurde in verschiedenen Geweben (u.a. post mortem Hirngewebe, Erythrozyten, Leukozyten) schizophrener Patienten gefunden (Fenton et al. 2000, Yao et al. 2000).

In-vivo-Untersuchungen des cerebralen Membranlipidstoffwechsels wurden durch die Etablierung der ^{31}P -Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie (^{31}P -MRS) möglich. Zahlreiche Untersuchungen sprachen im Hauptbefund für eine relative Zunahme an Membranabbau-Metaboliten und ein vermindertes Aufkommen an Membranlipid-Vorstufen in frontalen und (weniger konsistent) auch in temporalen Hirnregionen schizophrener Patienten (Keshavan et al. 2000, Stanley et al. 2000).

Die Annahme eines verstärkten Membranabbaus wurde auch durch enzymkinetische Untersuchungen gestützt. Mehrere Arbeitsgruppen konnten eine Aktivitätssteigerung von Enzymen der Phospholipase A₂-Familie im Serum (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990), in Thrombozyten (Gattaz et al. 1995, Ross et al. 1997) und in post mortem Hirngewebe (Ross et al. 1999) von schizophrenen Patienten zeigen. Ausgehend von diesen Befunden und der im folgenden dargestellten Bedeutung der Membranlipide für alle membranassoziierten Proteine bzw. die verschiedenen Zellsignalsysteme, lassen sich viele krankheitsbedingte Erscheinungen durch Störungen im Phospholipidmetabolismus erklären. Da strukturelle und funktionelle Abweichungen sowie Membranstoffwechselstörungen in einer Reihe von Studien bereits im Vorfeld oder Prodromalstadium schizophrener Erkrankungen bzw. bei genetischen Risikopersonen nachweisbar waren, wurden Veränderungen der Membranlipide mehr und mehr als biochemisches Korrelat einer genetisch bedingten Entwicklungsstörung des ZNS interpretiert (Horrobin 1998). Darüber hinaus lassen sich anhand der Membranlipidhypothese alternative Therapieansätze (z.B. die Gabe von essentiellen Fettsäuren zusätzlich zur neuroleptischen Therapie) ableiten, für die es bereits erfolgversprechende Untersuchungsergebnisse gibt (Peet 2002, Peet und Stokes 2005).

Die vorliegende Arbeit widmet sich den PLA₂-Veränderungen bei schizophrenen Patienten, als eine wichtige Säule der Membranlipidhypothese. Zum besseren Verständnis der PLA₂-Funktion sowie der in dieser Studie verwendeten Untersuchungsmethode folgt an dieser Stelle ein kurzer Überblick über Aufbau und Funktion von Membranphospholipiden und den daran gebundenen essentiellen Fettsäuren im menschlichen Organismus.

2.3. Aufbau und Funktion zellulärer Membranen

Der Aufbau der Membran spiegelt ihre zwei gegensätzlichen Funktionen wieder. Zum einen trennt die Zellmembran wässrige Lösungen ganz unterschiedlicher Zusammensetzung, zum anderen bestimmt die Membran das Ausmaß der Kommunikation zwischen den Kompartimenten. Die Membran besteht aus einer Doppelschicht von Phospholipiden, wobei sich in der Membranmitte die apolaren Fettsäurereste gegenüberstehen und die polaren Kopfgruppen in die wässrigen Lösungen ragen. Neben den Phospholipiden enthält die Membran Proteine und in geringerem Umfang auch Kohlenhydrate. Die Proteine können an die hydrophilen Kopfgruppen der Lipide angelagert sein, oder sie können sich als integrale Proteine durch die ganze Membran spannen. Derartige Proteine dienen unter anderem als Transportproteine (z.B. Ionenkanäle, Carrierproteine) oder als Rezeptorproteine (z.B. zur Signaltransduktion). Siehe dazu Abbildung 3.

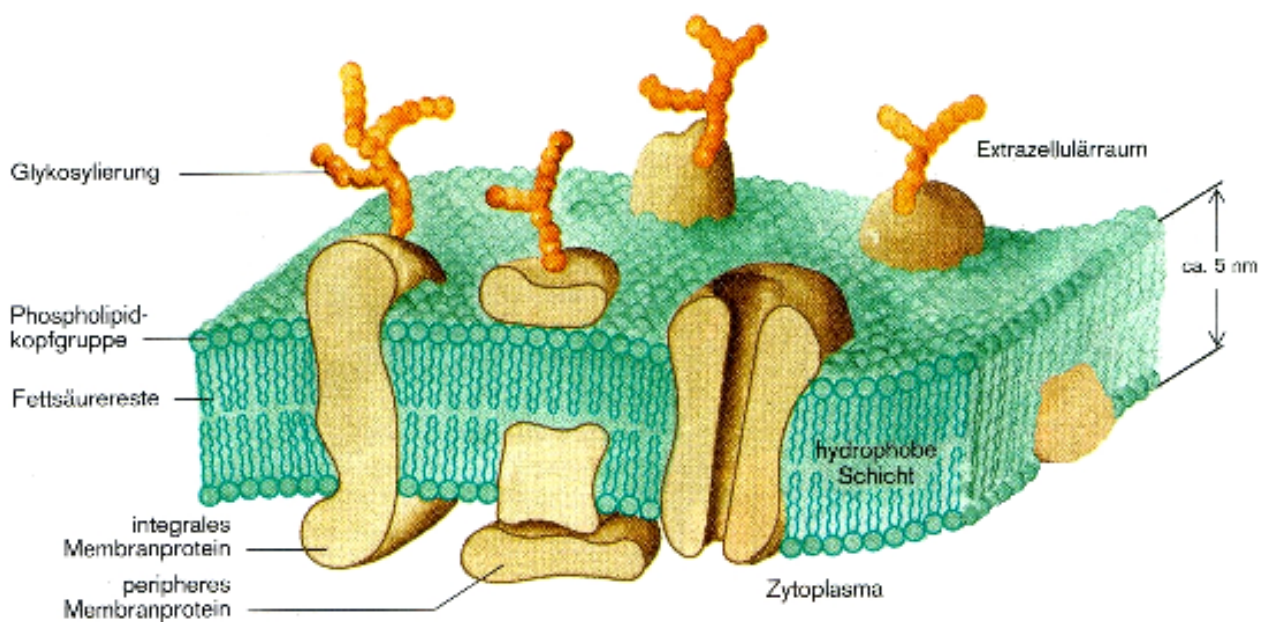


Abbildung 3: Schematischer Aufbau einer Plasmamembran (Klinke und Silbernagl 2001).

2.4. Aufbau und Funktion der Phospholipide

Phospholipide stellen den Hauptanteil zellulärer Membranen dar. Allerdings sind Phospholipide auch an wichtigen inter- und intrazellulären Kommunikationsvorgängen beteiligt. An die Membranphospholipide sind verschiedene second Messenger Systeme und unterschiedliche Stoffwechselwege gekoppelt. Phospholipide besitzen als Charakteristikum sowohl hydrophobe als auch hydrophile Anteile, wodurch die grenzgebende Funktion in der Membran ermöglicht wird (Löffler 2003). In Abbildung 4 ist der Aufbau eines Phospholipidmoleküls dargestellt. Glycerin als dreiwertiger Alkohol bildet das Grundgerüst, an dessen erstem und zweitem Kohlenstoffatom (sogenannte sn-1 und sn-2 Position) verschiedene langkettige Fettsäuren verestert sind. Am ersten Kohlenstoffatom binden in neuronalen Membranen normalerweise gesättigte Fettsäuren, deren Funktion hauptsächlich in der Vermittlung der Neuroplastizität liegt (Wakabayashi et al. 1994). Am zweiten Kohlenstoffatom binden bevorzugt die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Farooqui et al. 2000). Diese werden, wie bereits beschrieben, auch als PUFAs bezeichnet. Kommt es zu einem Mangel der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, kann die sn-2 Position auch mit „minderwertigeren“ Fettsäuren besetzt werden, wodurch zahlreiche Funktionen der Phospholipide bzw. der PUFAs selbst nicht mehr optimal gewährleistet werden können (Horrobin 1998, Farooqui et al. 2000). Das dritte Kohlenstoffatom des Glycerins (die sn-3 Position) bindet über eine Phosphatbrücke geladene Reste, wie z.B. Cholin, Ethanolamin, Serin oder Inositol, und bildet somit den hydrophilen „Kopfteil“. Die Fettsäurereste bilden den ungeladenen, hydrophoben „Schwanzteil“. In wässriger Umgebung erfolgt die typische Anordnung in einer Lipiddoppelschicht.

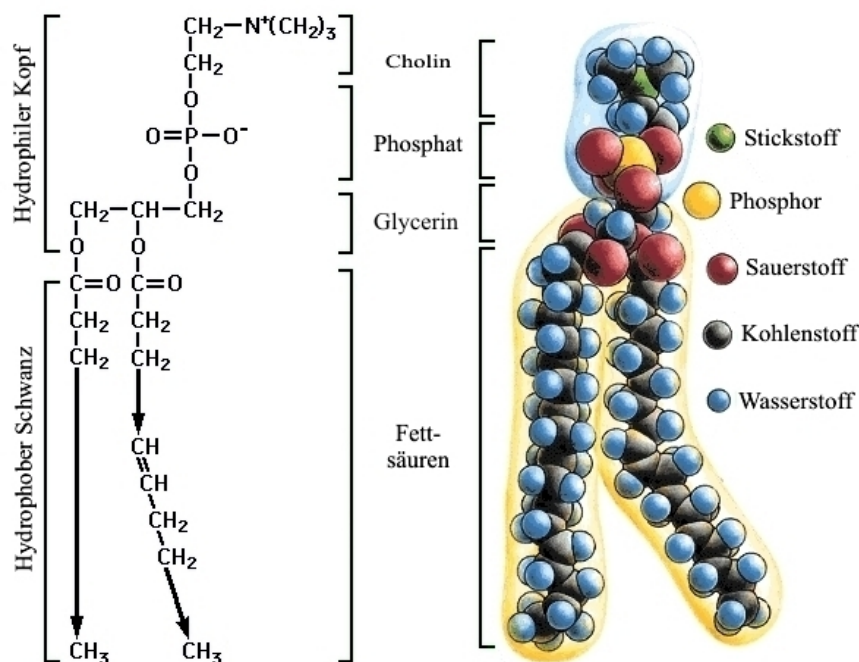


Abbildung 4:
Aufbau eines
Phospholipids am
Beispiel des
Phosphatidylcholins.

Die Variabilität der gebundenen Fettsäuren bzw. der geladenen Reste trägt zu den charakteristischen Eigenschaften der Zellen bei, u.a. durch die unterschiedlichen Reaktionsmöglichkeiten der jeweils gekoppelten Messengersysteme bzw. durch Beeinflussung der Ansprechbarkeit der membrangebundenen Rezeptorproteine. Darüber hinaus sind die Phospholipide bzw. die PUFAs verknüpft mit den verschiedenen klassischen Transmittersystemen, wie dem dopaminergen, cholinergen, GABAergen und dem NMDA-System (Fenton et al. 2000, Bazan 2003, Skosnik und Yao 2003).

2.5. Aufbau und Funktion der PUFAs

Phospholipide bestehen zu 30-60% aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Diese werden während der neuronalen Signaltransduktion mittels einer PLA₂ aus der sn-2 Position der Phospholipide freigesetzt und fungieren als second Messenger. Wie bereits erwähnt, beträgt der PUFA-Anteil am Trockengewicht des menschlichen Gehirns 15-30% (Peet 2002).

Der menschliche Organismus hat die Fähigkeit zur de novo Synthese dieser Fettsäuren verloren, was ihnen auch den Namen essentielle Fettsäuren (Essential Fatty Acid, EFA) beibrachte. In der Klassifikation der essentiellen Fettsäuren existieren zwei Serien, die n-3 und die n-6 Serie. Die Nomenklatur n-6 und n-3 ist synonym mit der Bezeichnung Omega-3 und Omega-6 und beschreibt die Position der ersten Doppelbindung, gezählt ab dem Methylenende der Verbindung. Diese Fettsäuren werden entweder mit der Nahrung aufgenommen oder aus den (ebenfalls essentiellen) Ausgangssubstanzen Linolsäure (18:2, n-6 Reihe) und α -Linolensäure (18:3, n-3 Reihe) synthetisiert. Der Terminus 18:2 (n-6) bedeutet, daß die Linolsäure 18 Kohlenstoffatome mit 2 Doppelbindungen hat, wovon sich die erste Doppelbindung vom Methylenende aus gezählt am sechsten Kohlenstoff befindet. Eine Übersicht über die Reihen der n-3 und der n-6 Fettsäuren mit den zugehörigen enzymatischen Reaktionsschritten zeigt Abbildung 5.

Omega-3 und Omega-6 EFAs konkurrieren um die selben Enzyme (Desaturasen, Phospholipasen und Elongasen) und lassen sich nicht ineinander umwandeln. Das Verhältnis zwischen ungesättigten (einschließlich der EFAs) und gesättigten Fettsäuren bestimmt die Struktur und Fluidität der Zellmembranen. Damit wird wiederum die Rezeptoraktivität, die Freisetzung von Neurotransmittern und die Ionenkanalfunktion beeinflusst (Farooqui et al. 2000). Störungen in diesen Bereichen können zum Beispiel zu einem unkontrollierten Kalziumeinstrom führen, welcher oxidativen Stress und inflammatorische Reaktionen des Hirngewebes hervorrufen kann (Farooqui und Horrocks 1994).

n-6 Fettsäuren und Derivate		Enzym	n-3 Fettsäuren und Derivate	
	Linolsäure 18:2		α -Linolensäure 18:3	
	↓	$\Delta 6$ -Desaturase	↓	
	Gamma-Linolensäure 18:3		Octadecatetraensäure 18:4	
	↓	Elongase	↓	
Prostaglandine ←	Dihomogamma-Linolensäure 20:3		Eicosatetraensäure 20:4	
	↓	$\Delta 5$ -Desaturase	↓	
Prostaglandine ←	Arachidonsäure 20:4		Eicosapentaensäure 20:5	
Thromboxane	↓	Elongase	↓	→ Prostaglandine Thromboxane Leukotriene
	Adrensäure 22:4		Docosapentaensäure 22:5	
	↓	Elongase	↓	
	Tetracosatetraensäure 24:4		Tetracosapentaensäure 24:5	
	↓	$\Delta 6$ -Desaturase	↓	
	Tetracosapentaensäure 24:5		Tetracosahexaensäure 24:6	
	↓	Enzyme der β -Oxidation	↓	
	Docosapentaensäure 22:5		Docosahexaensäure 22:6	

Abbildung 5: Überblick über die Synthesewege von n-3 und n-6 Fettsäuren und ihren Derivaten. Gelb unterlegt sind Fettsäuren von besonderer Bedeutung für die zelluläre Signaltransduktion und Enzymregulation. Modifiziert nach Horrobin 1998.

Erregbare Membranen, wie z.B. synaptische Membranen oder die Retina haben eine besonders hohe Konzentration an PUFAs. Es scheint offensichtlich, daß diese Fettsäuren eine kardinale Funktion bei neuronalen Prozessen wie der monoaminergen Neurotransmission, der Hirnentwicklung und der synaptischen Plastizität übernehmen (Bazan et al. 1997, Bazan 2005). Genau diese Prozesse sind es eben auch, die für die Entwicklung von Schizophrenien bedeutsam sind (Bazan et al. 1997, Bazan 2005).

2.6. Die Phospholipase A₂

Wie bisher beschrieben, ist die wohl bedeutendste Aufgabe der Phospholipase A₂ unter physiologischen Bedingungen vor allem der Erhalt der Membranfluidität, der sich durch den Umsatz von Phospholipiden und Umbauprozessen der Membranen ergibt. Die Kontrolle der Balance zwischen freien und veresterten mehrfach ungesättigten Fettsäuren, in welche die PLA₂ wesentlich involviert ist, bildet einen der wichtigsten Mechanismen für den Erhalt der Integrität neuronaler Membranen (Farooqui et al. 2004). Wie bereits angedeutet, hat die Regulation des Fettsäureprofils wiederum maßgeblichen Anteil an der Rezeptorfunktion und der Signaltransduktion.

Phospholipase A₂ spielt außerdem eine wichtige antioxidative Rolle, da auf diese Weise beschädigte Fettsäuren von der Membran entfernt werden, so daß ihre Entgiftung durch die

Glutathione-Peroxidase erfolgen kann. Die PLA₂ baut hauptsächlich Phospholipide ab, die oxidativ veränderte Lipide enthalten.

Die PLA₂ realisiert ihre Funktionen durch die Hydrolyse von Phospholipiden. Die Produkte dieser Reaktion sind freie Fettsäuren und Lysophospholipide (Six und Dennis 2000). Die Fettsäuren können zum einen als wichtige Energiespeicher angesehen werden, bedeutender ist aber die Rolle der freigesetzten PUFAs und deren Derivaten als second Messenger.

2.6.1. Die PLA₂ Isoformen

Die Gruppe der PLA₂ umfasst eine Vielzahl von Enzymen (die sogenannte PLA₂ „Superfamilie“), die alle spezifisch die hydrolytische Freisetzung von Fettsäuren aus der sn-2 Position (deshalb PLA-2) des Glycerin-Grundgerüsts katalysieren. Als Reaktionsprodukte entstehen hauptsächlich PUFAs (z.B. Arachidonsäure) und Lysophospholipide. Der Angriffsort der PLA₂ am Phospholipidmolekül ist in Abbildung 6 dargestellt.

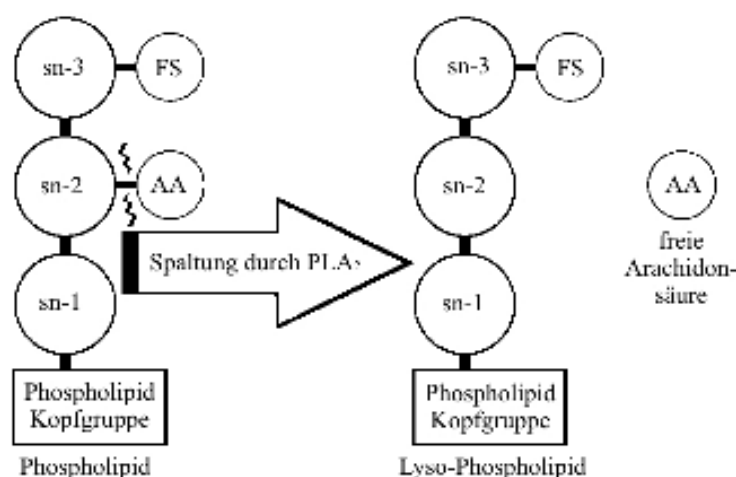


Abbildung 6:

Hydrolytische Spaltung einer Esterbindung an der sn-2 Position eines Phospholipidmoleküls durch die PLA₂ (Law et al. 2006).

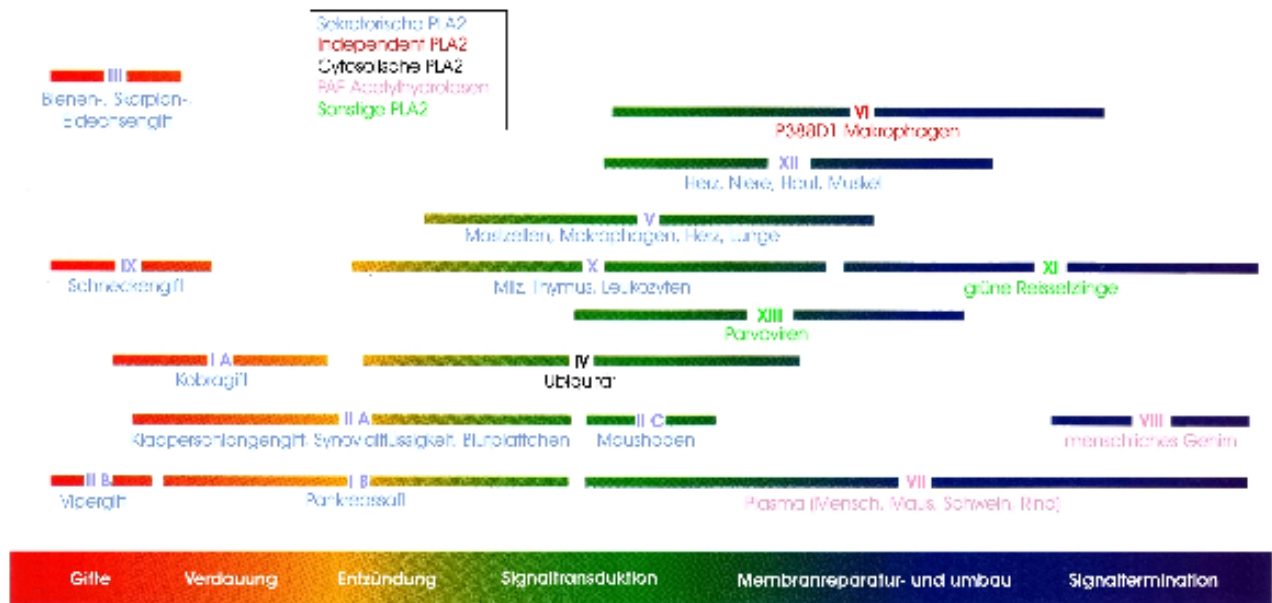
Zu Beginn der Forschungen wurden die Phospholipasen nach ihrem Wirkort benannt. 1890 wurde die PLA₂ erstmals als Bestandteil des Schlangengiftes beschrieben. Es handelte sich dabei um ein kleines Molekül von 15 kDa, daß Histidin in seinem aktiven Zentrum hat. Diese Form der PLA₂ lag in cytosolischen Granula gespeichert vor bzw. wurde auf bestimmte Reize hin synthetisiert, um dann nach extrazellulär abgegeben zu werden. Daher wurde dieses Enzym als sekretorische sPLA₂ bezeichnet.

Zu Beginn der 90er Jahre des 20. Jahrhunderts wurde aus neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten eine andere Form der PLA₂ isoliert, welche sich durch ein großes Molekulargewicht (85 kDa) und Serin im aktiven Zentrum auszeichnete. Da diese große Form der PLA₂ im Cytosol der Zellen zu finden war, wurde sie auch als cytosolische cPLA₂ bezeichnet.

Später wurden die PLA₂ alternativ auch in kalziumabhängige und kalziumunabhängige Formen unterteilt. Diese Klassifikation stimmt nicht mit der Einteilung in sPLA₂ und cPLA₂ überein: die sekretorischen sPLA₂ benötigen für ihre Aktivität Kalzium im millimolaren Bereich. Die cytosolischen cPLA₂ reagieren im mikromolaren Bereich auf Kalzium. Eine andere Gruppe, die Ca²⁺-independent iPLA₂ sind hingegen in ihrer Aktivität völlig kalziumunabhängig (Taketo und Sonoshita 2002). Die iPLA₂ sind ähnlich wie die cPLA₂ intrazelluläre Enzyme, wobei sie jedoch nicht wie die cPLA₂ grundsätzlich im Cytosol lokalisiert sind sondern sich sowohl im Cytosol als auch in Membranteilen befinden (Akiba und Sato 2004).

Auch die Einteilung nach dem Kalziumbedarf stellte sich als mehr oder weniger irreführend heraus, da einige kalziumabhängige PLA₂ tatsächlich Kalzium für ihre katalytische Aktivität benötigen, wohingegen bei anderen lediglich die Bindung an Membranphospholipide durch Kalzium gefördert wird.

Eine strukturierte Einteilung der PLA₂-Enzyme wird heutzutage molekulargenetisch vorgenommen. Im Säugetierorganismus sind bis dato 19 verschiedene PLA₂-Gruppen identifiziert worden (Sun et al. 2004). Jede Gruppe kann verschiedene Isoenzyme beinhalten, welche mit einem Buchstaben als Namenszusatz versehen werden. Zum Beispiel meint der Terminus PLA₂ G4 A die Phospholipase A₂ der Gruppe IV und der Isoform A. Jedes Isoenzym hat ein eigenes Gen. Von den jeweiligen Isoenzymen können nun noch verschiedene Splicevarianten gefunden werden. Diese entstehen durch unterschiedliches Herausschneiden der Introns beim Splicen der PLA₂-Gene. Durch Untersuchungen von Homologien an Gendatenbanken wurden auch zahlreiche PLA₂-Formen entdeckt, die keine enzymatische Aktivität besitzen. Sie wurden nicht in die PLA₂-Klassifikation aufgenommen. Eine Übersicht über Vorkommen und Funktion der verschiedenen PLA₂-Gruppen und Isoformen bietet Abbildung 7.

**Abbildung 7:**

PLA₂-Subgruppen mit Fundort und hauptsächlicher Wirkung. Modifiziert nach Gelb et al. 2003.

Die meisten Studien, welche die PLA₂-Aktivität von schizophrenen Patienten gemessen haben, wurden durchgeführt bevor diese Einteilung der Phospholipasen klar wurde. So wurden oftmals enzymatische Essays genutzt, die verschiedene PLA₂-Untergruppen gemessen haben. Die Interpretation der Ergebnisse gestaltet sich dadurch kompliziert.

2.7. PLA₂ und Schizophrenie

Zum Verständnis des vorliegenden Ansatzes und des Kenntnisstandes vor Studienbeginn, sollen an dieser Stelle einige wichtige Studien detailliert vorgestellt werden. Einen Überblick über die aktuelle Studienlage zur Bestimmung der PLA₂-Aktivität bei schizophrenen Patienten liefert dabei Tabelle 3.

Tabelle 3: Übersicht über die klinischen Studien zur PLA₂ an Schizophrenen

Studie	Stichprobe und Beschreibung der Studie	Methode / Material	Bestimmte PLA ₂ - Form	PLA ₂ Aktivität bei Schizophrenen im Vergleich zu Kontrollen
Gattaz et al. 1987	erhöhte PLA ₂ Aktivität bei 20 schizophrenen (davon 8 NL naïv) im Vergleich zu 6 nichtschizophrenen psychiatrischen Patienten und 21 Kontrollen ; Abfall der PLA ₂ Aktivität nach 3 Wochen NL Behandlung	Fluorometrisch / Plasma	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂	↑
Gattaz et al. 1990	Replikation der Ergebnisse von 1987 (14 schizophrene Patienten , davon 6 NL naïv und 8 nichtschizophrene psychiatrische Patienten ; 20 Kontrollen); kein Unterschied bei pankreatischer (sekretorischer) PLA ₂	Fluorometrisch / Serum Fluorometrisch / Plasma	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂ Ca ²⁺ unabh. PLA ₂	↑ ↑
Noponen et al. 1993	39 schizophrene, 26 nichtschizophrene psychiatrische Patienten, 26 Kontrollen erhöhte PLA ₂ Aktivität bei schizophrenen und nichtschizophrenen Patienten im Vergleich zu Kontrollen. Kein Unterschied bei Enzymaktivität zwischen Schizophrenen und anderen psychiatrischen Patienten.	Radiometrisch / Serum	Ca ²⁺ abh. PLA ₂	↑
Albers et al. 1993	10 schizophrene, 25 nichtschizophrene psychiatrische Patienten, 10 Kontrollen. kein Unterschied der PLA ₂ Aktivität zwischen Schizophrenen und Gesunden	Radiometrisch / Serum	Ca ²⁺ abh. PLA ₂	n.s.
Gattaz et al. 1995	erhöhte PLA ₂ Aktivität in Thrombozyten bei 31 schizophrenen (davon 15 NL naïv) im Vergleich zu 31 nichtschizophrenen psychiatrischen Patienten und 31 Kontrollen , Verminderung der PLA ₂ Aktivität durch NL Behandlung	Radiometrisch / Thrombozyten	Ca ²⁺ abh. PLA ₂	↑
Katila et al. 1997	34 schizophrene (davon 11 NL naïv), 28 nichtschizophrene psychiatrische Patienten, 62 Kontrollen. Kein Unterschied der PLA ₂ Aktivität zwischen Schizophrenen und Gesunden	Fluorometrisch / Plasma	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂	n.s.
Ross et al. 1997	2 Methoden (fluorometrisch und radiometrisch); 24 Schizophrene unter NL und 33 Gesunde. Fluorometrische Methode: PLA ₂ Aktivität bei Schizophrenen signifikant höher; Radiometrische Methode: kein Unterschied → nur Ca ²⁺ unabhängige PLA ₂ scheint bei Schizophrenen erhöht	Fluorometrisch / Serum Radiometrisch / Serum	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂ Ca ²⁺ abh. PLA ₂	↑ n.s.
Ross et al. 1999	10 Schizophrene, 8 Patienten mit bipolaren Störungen, 12 Kontrollen. Ca ²⁺ unabh. PLA ₂ Aktivität im temporalen Kortex Schizophrener erhöht. Ca ²⁺ abh. PLA ₂ im temporalen-, präfrontalen Kortex und Putamen verringert. PLA ₂ Aktivität bei Patienten mit bipolaren Störungen zeigte sich normal.	Fluorometrisch / Hirngewebe (post mortem)	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂ Ca ²⁺ abh. PLA ₂	↑ ↓
Hudson et al. 1999	23 Schizophrene, 30 Kontrollen. Kein signifikanter Gruppenunterschied. Untergruppen nach Niacin-Test: positiv (13 Schizophrene, 29 Kontrollen), negativ (10 Schizophrene, 1 Kontrolle). PLA ₂ zeigte sich signifikant erniedrigt bei positiver Niacin Reaktion.	Radiometrisch / Serum	Ca ²⁺ abh. PLA ₂	n.s.
Tavares et al. 2003	38 Schizophrene (davon 19 NL naïv), 28 Kontrollen. Kein signifikanter Gruppenunterschied beim Niacin-Test. PLA ₂ Aktivität bei Schizophrenen erhöht. Nach 8 Wochen NL Therapie zeigte sich eine signifikante Verringerung der PLA ₂ Aktivität.	Niacin-Sensitivität und Fluorometrisch / Serum	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂	↑
Lasch et al. 2003	26 Schizophrene (davon 11 NL naïv), 26 Kontrollen. Fluorometrische Messung mit 2 verschiedenen Assays und 3 verschiedenen Substraten. PLA ₂ Aktivität zeigt sich abhängig von der Methode (bei einem Assay signifikant erhöht, bei dem anderen kein Gruppenunterschied).	Fluorometrisch / Serum	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂	↑
Macdonald et al. 2004	29 Schizophrene, 27 Kontrollen. Direkte Enzymmessung mittels ELISA (gemessen wurde die Enzymkonzentration, nicht die Aktivität) zeigte signifikant höhere Werte bei Schizophrenen im Vergleich zu den Kontrollen.	Elisa / Erythrozyten	PLA ₂ G4 A	↑
Smesny et al. 2005	53 Schizophrene (30 Ersterkrankte und 23 rezidivierende Erkrankte), 53 Kontrollen. PLA ₂ Aktivität zeigt sich bei Ersterkrankten im Vergleich zu den gesunden Kontrollen signifikant erhöht, nicht jedoch bei rezidivierend Erkrankten.	Fluorometrisch / Serum	Ca ²⁺ unabh. PLA ₂	↑

Erstmals wurden PLA₂-Veränderungen im Plasma schizophrener Patienten 1987 beschrieben (Gattaz et al. 1987). Unter der Verwendung einer fluorometrischen Methode (Thuren et al. 1985) wurde die PLA₂-Aktivität von 20 schizophrenen Patienten und parallelisierten gesunden Kontrollen bestimmt. Es zeigte sich bei den schizophrenen Patienten eine signifikant höhere PLA₂-Aktivität als bei den gesunden Kontrollen. Unter den Patienten befanden sich 8 Ersterkrankte. Die gemessenen PLA₂-Aktivitäten von 7 der 8 Ersterkrankten gehörten zu den höchsten Werten. Ein statistischer Vergleich zwischen den Erkrankungsstadien wurde hier jedoch nicht berechnet. Von der gleichen Arbeitsgruppe wurde dieser Befund bei schizophrenen Patienten auch im Serum und an Thrombozytenmembranen erhoben (Gattaz et al. 1990, Gattaz et al. 1995). Thrombozyten gelten wegen der teilweise analogen Membran- und Rezeptoreigenschaften als geeignete Modelle für Nervenzellen. Gemeinsam mit Befunden einer erniedrigten Konzentration des PLA₂-Substrates Phosphatidylcholin (Wolkin et al. 1987) und einer erhöhten Konzentration des Reaktionsproduktes Lysophosphatidylcholin bei schizophrenen Patienten (Pangerl et al. 1991) wiesen diese Befunde auf einen gesteigerten Membranphospholipid-Umsatz bei schizophrenen Psychosen hin.

Noponen et al. konnten 1993 unter Verwendung einer radiometrischen Methode (Schulze et al. 1988) genau wie Gattaz eine Aktivitätssteigerung von PLA₂-Enzymen nachweisen (Noponen et al. 1993). Den beiden folgenden Studien gelang die Replikation dieser Ergebnisse nicht. Albers et al. fanden bei einer kleineren Stichprobe von 10 schizophrenen Patienten keine Unterschiede der PLA₂-Aktivität zwischen Schizophrenen und gesunden Kontrollen (Albers et al. 1993). Genauso zeigten die Arbeiten von Katila et al. (1997) und Hudson et al. (1999) keine PLA₂-Aktivitätsunterschiede zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen. Letzte Replikationen einer erhöhten PLA₂-Aktivität bei Schizophrenen gelangen durch die Arbeiten von Tavares et al. (2003), Macdonald et al. (2004) und Smesny et al. (2005). Macdonald et al. (2004) konnten dabei mittels ELISA direkt eine erhöhte PLA₂G4A Konzentration bei schizophrenen Patienten nachweisen. Wichtig hierbei ist, daß mit dieser Methode nicht wie üblich die Enzymaktivität, sondern die Enzymkonzentration gemessen wurde. In der bis dahin größten Untersuchungsgruppe konnten Smesny et al. (2005) erhöhte PLA₂-Aktivitäten bei ersterkrankten Schizophrenen im Vergleich zu gesunden Kontrollen, nicht jedoch bei rezidivierend erkrankten Schizophrenen zeigen.

Zusammengenommen erscheinen die Befunde zunächst uneinheitlich. Betrachtet man Tabelle 3 etwas genauer, so fällt auf, daß alle Arbeiten, die die Aktivität kalziumunabhängiger

PLA₂-Enzyme bestimmt haben, eine gesteigerte Aktivität bei den schizophrenen Patienten feststellen konnten. Die Aktivität kalziumabhängiger PLA₂-Enzyme hingegen zeigte zwischen Patienten und Kontrollen keine Veränderungen bzw. war erniedrigt. Eine Ausnahme stellt hier die Arbeit von Noponen et al. (1993) dar, die eine Erhöhung der kalziumabhängigen PLA₂ - Aktivität zeigte.

Diese Beobachtung konnte im direkten Methodenvergleich bestätigt werden. Ross et al. kamen 1997 mit einer methodisch vergleichenden Studie (fluorometrisch vs. radiometrisch) zu dem Schluß, daß das verwendete Assay entscheidenden Einfluss auf das Ergebnisse hat. Nach Messung der PLA₂-Aktivität mit der fluorometrischen Methode nach Thuren (Thuren et al. 1985), mit der die Aktivität einer kalziumunabhängigen PLA₂ gemessen wird, fanden sich im Vergleich zu den parallelisierten gesunden Kontrollen bei den Schizophrenen signifikant erhöhte Werte. Im Gegensatz dazu war unter Verwendung des radiometrischen Assays von Schulze (Schulze et al. 1988) innerhalb der gleichen Population kein Gruppeneffekt mehr erkennbar. Die mit dieser Methode nachgewiesene Enzymaktivität entspricht der einer kalziumabhängigen PLA₂. Ross postulierte deshalb, daß bei schizophrenen Patienten lediglich die Aktivität einer kalziumunabhängigen PLA₂ gesteigert sei. Hieraus wurde, neben der kleinen Untersuchungsgruppe, eine weitere Erklärung für die „Negativbefunde“ von Albers et al. (1993) und Katila et al. (1997) abgeleitet.

Eine weitere Arbeit von Ross et al. an post mortem Hirngewebe erlaubte die Komplexität intrazerebraler Effekte durch die PLA₂ noch besser zu verstehen (Ross et al. 1999). Ross berichtete von Veränderungen verschiedener PLA₂-Subtypen im autopsierten temporalen, präfrontalen und okzipitalen Kortex und in Proben aus Putamen, Hippocampus und Thalamus schizophrener Patienten. Während die Aktivität der kalziumunabhängigen PLA₂ im Bereich des frontalen Kortex nicht erhöht war, konnten im temporalen Bereich erhöhte Werte gefunden werden. Außerdem war die Aktivität der kalziumabhängigen PLA₂ im präfrontalen und temporalen Kortex, sowie im Putamen erniedrigt, während sich in den anderen Hirnbereichen keine signifikanten Veränderungen fanden. Diese Befunde wurden im Sinne eines gestörten Zusammenspiels verschiedener PLA₂-Subtypen bei schizophrenen Patienten interpretiert (Ross et al. 1999).

Aufbauend auf den Arbeiten von Ross folgte auch die Arbeitsgruppe um Lasch (2003) der Überlegung, daß sich enzyspezifische Abweichungen im Phospholipidabbau unter methodischer Präzisierung besser beschreiben und inhaltlich besser verstehen lassen. Während Ross et al. (1997) eine fluorometrische mit einer radiometrischen Methode verglich, untersuchten Lasch et al. an Serumproben von 26 schizophrenen Patienten und

parallelisierten, gesunden Kontrollen die PLA₂-Aktivität mit drei unterschiedlichen, kommerziellen, fluoreszierenden PLA₂-sensitiven Substraten. Es handelte sich dabei um bis-BODIPY FL C₁₁-PC, NBDC₆-HPC und PED₆. Während die Substrate bis-BODIPY FL C₁₁-PC und PED₆ erst nach Spaltung durch das PLA₂-Enzym fluorogene Aktivität freisetzten und deshalb nur in einem kontinuierlichen spektrofluorometrischen Messansatz untersucht werden konnten, erfolgte die Exploration des NBDC₆-HPC mittels HPTLC-Technik (High Performance Thin Layer Chromatography). Diese Methode fand aufgrund nachfolgend erläutelter Vorteile auch in dieser Arbeit Anwendung. Die Ergebnisse von Lasch et al. zeigen, daß lediglich mit der HPTLC-Methode unter der Verwendung des Substrates NBDC₆-HPC eine erhöhte PLA₂-Aktivität der schizophrenen Patienten gegenüber den gesunden Kontrollen gemessen werden konnte (Lasch et al. 2003). Die beiden anderen Substrate zeigten keinen Gruppenunterschied. Eine gesonderte Untersuchung der Kalziumabhängigkeit der Ergebnisse ergab, daß mit allen drei verwendeten Substraten die Aktivität kalziumunabhängiger PLA₂ gemessen wurde. Dies ließ den Schluß zu, daß nicht nur die Kalziumabhängigkeit der PLA₂-Enzyme Bedeutung für die Aufdeckung von Gruppenunterschieden zwischen schizophrenen Patienten und Gesunden hat, sondern auch die Sensitivität des PLA₂-spezifischen Substrats.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Zusammensetzung der Studiengruppe

Im Rahmen dieser Studie wurden Daten und Blutproben von insgesamt 70 Personen gewonnen. Dabei handelt es sich um 48 ersterkrankte Schizophrene und 22 gesunde Kontrollen der Abteilung ORYGEN Youth Health (dem früheren Early Psychosis Prevention and Intervention Centre) der Universität in Melbourne / Australien, mit dem eine Kooperation besteht. Diese Einrichtung entspricht in ihrer Struktur am ehesten einer psychiatrischen Tagesklinik. Alle Patienten erfüllten nach DSM-IV die Kriterien einer akuten schizophrenen Episode bei Schizophrenie vom paranoiden Typ. Die Diagnose wurde bei allen Patienten durch zwei unabhängige, erfahrene Psychiater (Dr. Gregor Berger, Dr. Melissa Kerr) gestellt und anhand eines strukturierten klinischen Interviews (SCID-IV, Wittchen et al. 1997) bestätigt. Die epidemiologischen Daten sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Das Blut zur Bestimmung der PLA₂-Aktivität wurde zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie (W₀) und nach 12 Wochen (W₁₂) abgenommen. Entsprechend der Medikation zum Zeitpunkt der 1. Blutentnahme, wurden alle Patienten in Neuroleptika naïv bzw. mediziert eingeteilt. Mediziert bedeutet dabei, daß ein Neuroleptikum insgesamt höchstens 6 Tage vor Zeitpunkt W₀ gegeben wurde. Es folgte dann eine Medikation mittels Olanzapin (mittlere Dosis 7,5mg; Range: 5-15mg) oder Risperidon (mittlere Dosis 4mg; Range: 3-6mg).

Tabelle 4: Epidemiologische Daten der Versuchspopulation

	Patienten	Kontrollen
Anzahl n	48	22
Geschlecht [männlich / weiblich]	35 / 13	13 / 9
Alter [Jahre]	min 15 / max 25	min 15 / max 25
Mittelwert ± Standardabweichung	Ø 19,41 ± 2,94	Ø 20,60 ± 3,11
Medikation W ₀ [NL naïv / mediziert ≤ 6d]	16 / 32	
Dauer der unbehandelten Psychose [Monate]	min 0,13 / max 48,0	
Mittelwert ± Standardabweichung	Ø 6,78 ± 8,61	

Weder bei den Patienten noch bei den Kontrollen gab es Anhalt für schädlichen Gebrauch oder Abhängigkeiten bezüglich Nikotin, Alkohol, Cannabis oder Amphetaminen. Bezüglich psychiatrischer Erkrankungen hatten 22 Patienten eine positive Familienanamnese. Einen Überblick gibt Tabelle 5.

Tabelle 5: Übersicht über die Familienanamnese der Patientenpopulation.

Positive Familienanamnese bezüglich psychiatrischer Erkrankungen	22	Schizophrenie	7	Angehörige 1.Grades	4
				Angehörige 2.Grades	1
				Angehörige 3.Grades	2
		Affektive Störungen und andere	15	Angehörige 1.Grades	12
				Angehörige 2.Grades	3
				Angehörige 3.Grades	0

Ebenso wurden die psychischen Symptome und das Funktionsniveau zum Zeitpunkt W_0 und zum Zeitpunkt W_{12} anhand der *Brief Psychiatric Rating Scale* (BPRS, Overall und Gorham 1962), der *Scale for the Assessment of Negative Symptoms* (SANS, Andreasen 1983), der *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS), der *Global Assessment of Functioning Scale* (GAF), und der *Social and Occupational Functioning Assessment Scale* (SOFAS, Goldman et al. 1992) erfasst. Dazu wurde mit jedem Patienten ein entsprechendes Interview geführt. Der Untersucher war in der Erhebung dieser Fremdbeurteilungsskalen erfahren. Die Einzelitems wurden in einer Tabelle des PC-Programms Microsoft Office Excel 2003 dokumentiert und später der statistischen Auswertung zugeführt. Die Erhebungsbögen der psychopathologischen Tests finden sich im Anhang dieser Arbeit (Kapitel 8.1.).

Mit allen Kontrollpersonen wurde ein semistrukturiertes Interview geführt. Auf diese Weise wurden das aktuelle psychische und somatische Befinden beurteilt sowie die frühere psychiatrische, somatische Anamnese und die Familienanamnese erhoben. Bei keiner der gesunden Kontrollpersonen fanden sich aktuell, in der Anamnese oder in der Familienanamnese Hinweise auf eine psychische Erkrankung. Die epidemiologischen Daten der gesunden Kontrollpersonen finden sich ebenfalls in Tabelle 4.

Die Studie wurde der Ethikkommission der University of Melbourne / North Western Mental Health Network (ORYGEN Youth Health) zur Begutachtung vorgelegt und bewilligt. Alle Teilnehmer der Studie (Patienten und Kontrollpersonen) erteilten nach einer ausführlichen Aufklärung über Ablauf und Ziel der Studie sowie mögliche Risiken der Blutentnahme schriftlich ihr Einverständnis für die Teilnahme.

3.2. Gewinnung der Proben

Von allen Patienten und Kontrollen wurden aus einer Armvene 10ml venöses Blut entnommen. Anschließend wurde das Blut für die ablaufende Gerinnung 30 Minuten lang bei Raumtemperatur gelagert. Das entstandene Serum wurde dann durch Zentrifugieren (10 Minuten bei 1600 U/min) von den korpuskulären Blutbestandteilen separiert und in Portionen von je 500µl in mit Zahlencodes versehene Plastikröhrchen gefüllt und bei -80°C tiefgefroren. Die Proben wurden auf Trockeneis zur weiteren Lagerung und Analyse der PLA₂-Aktivität in das Institut für Physiologische Chemie der Martin-Luther-Universität zu Halle gebracht. Erst zu Messzwecken wurden die Proben wieder aufgetaut. Daß die Lagerung der Proben im tiefgefrorenen Zustand über mehrere Monate die Enzymaktivität nicht beeinflußt, konnte in einer separaten Testreihe festgestellt werden. Bedingung hierfür ist allerdings eine hinreichende Homogenität der Probe, welche durch gründliches Durchmischen und erneute Zentrifugation nach dem Auftauen der Serumproben gewährleistet wurde (Lasch et al. 2003).

3.3. Die NBD Methode

Zur Bestimmung der PLA₂-Aktivität wurde die in der Arbeitsgruppe um Lasch entwickelte NBD Methode verwendet (Lasch et al. 2003). Dabei handelt es sich um eine fluorometrische Methode zur Bestimmung der Aktivität kalziumunabhängiger PLA₂-Enzyme (molekulargenetisch: PLA₂ der Gruppe VI). Namensgeber dieser Methode ist das hier verwendete, kommerziell erhältliche, fluoreszierende Substrat 2-(6-(7-nitro-benz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino-hexanoyl-1-hexa-decanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (NBDC₆-HPC[®], Molecular Probes Europe BV, Leiden, Niederlande). Im Folgenden wird das Substrat kurz als NBD-PC bezeichnet.

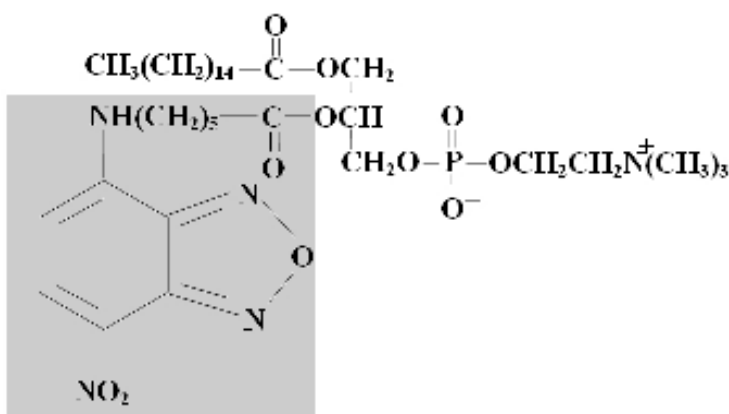


Abbildung 8:

Strukturformel des NBD-PC mit fluorogener Gruppe NBD-X (grau unterlegt) in der sn-2 Position.

NBD-PC ist ein Phospholipidanalogen. Es besteht aus einem Glycerolgerüst, an dessen sn-2 Position eine fluorochrome Gruppe in Form einer modifizierten Fettsäure gebunden ist. Diese fluorochrome Gruppe wird im Folgenden als NBD-X bezeichnet. Die Strukturformel von NBD-PC zeigt Abbildung 8. NBD-PC zeigt auch im ungespaltenen Zustand eine fluorogene Emission. Nach Abtrennung der fluoreszierenden Gruppe (NBD-X) durch die PLA₂ (siehe dazu Abbildung 9) ändert sich die Gesamtfluoreszenz im entstandenen Substrat-Produktgemisch gegenüber den Ausgangsbedingungen nicht. Deshalb wird zur Quantifizierung der PLA₂-Aktivität, die gleichbedeutend mit einer Substratspaltung pro Zeiteinheit ist, eine Auftrennung des Gemisches in seine Bestandteile notwendig.

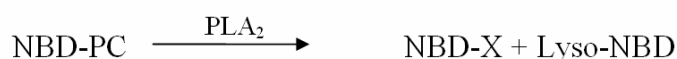


Abbildung 9:

Spaltung des NBD-PC durch die PLA₂ in NBD-X und Lyso-NBD.

Um das Substrat-Produktgemisch zu trennen kam eine dünnschichtchromatographische Technik (Thin Layer Chromatography, TLC) unter der Verwendung von HPTLC-Platten (High Performance Thin Layer Chromatography) zum Einsatz. Hiermit ist sichergestellt, daß nach dem Trennvorgang die Fluoreszenz des Produktes getrennt von der Fluoreszenz des Restsubstrates gemessen werden kann. In Abbildung 10 ist eine UV-Photographie einer HPTLC-Platte abgebildet.

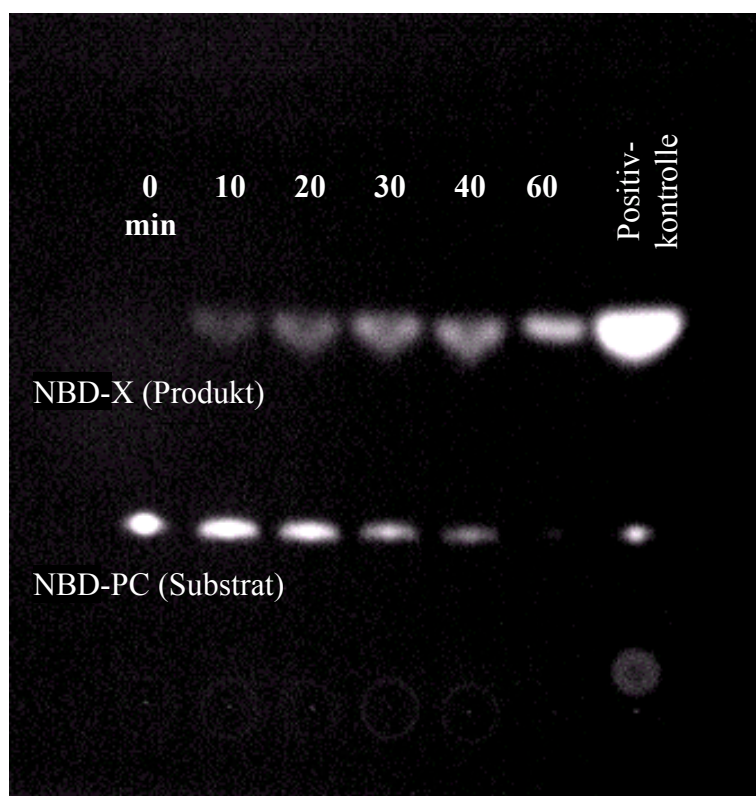


Abbildung 10:

UV-Photographie einer HPTLC-Platte aus den methodischen Vorarbeiten. Mit zunehmender Reaktionsdauer wächst die Lichtintensität der NBD-X Spots.

3.4. Charakterisierung der gemessenen Phospholipase

Das verwendete Substrat NBD-PC wird von der Herstellerfirma als PLA₂-spezifisches Substrat vertrieben. Dies bedeutet, daß nur Phospholipasen der Gruppe A₂ in der Lage sind, NBD-X vom NBD-PC abzuspalten. Dies wurde durch methodischen Vorarbeiten bestätigt (Lasch et al. 2003). Dazu wurden unter der Verwendung von bekannten PLA₂-spezifischen Inhibitoren so genannte Inhibitorprofile erstellt. Als Inhibitoren kamen BAB (4-Bromophenacylbromid), ARISTO (Aristolochic Acid) und OBAA (4-(4-Octadecylphenyl)-4-Oxobutenoic Acid) zur Anwendung. Die Inhibitorprofile der gemessenen PLA₂ und der als Kontrolle dienenden Bienengift-PLA₂ zeigten bei allen drei Inhibitortypen eine sehr effektive Hemmung der Enzymaktivität. Ergänzend wurden parallele Testmessungen mit Seren und einer vorher isolierten und angereicherten Probe der zu messenden PLA₂ durchgeführt. Anhand dieser beiden Maßnahmen ließ sich die vom Hersteller ausgewiesene PLA₂-Spezifität des Substrates NBD-PC bestätigen, was von großer Bedeutung für die Validität der gesamten Methode ist und bei vergleichenden Untersuchungen anderer kommerzieller Substrate nicht immer der Fall war (Lasch et al. 2003).

Die weitere Charakterisierung der gemessenen PLA₂-Aktivitäten erfolgte anhand ihrer Abhängigkeit von Ca²⁺-Ionen. Zur Überprüfung der Kalziumabhängigkeit der hier gemessenen PLA₂ wurden zunächst die Reaktionsansätze mit steigenden Mengen von Kalzium versehen. Darunter kam es zu einer deutlichen Enzymhemmung, welche durch die Neutralisation des Kalziums mittels des Chelatbildners EGTA (Ethylene-bis(oxyethylene-nitrilo)-tetraacetic Acid) reversibel war. Dieses Verhalten zeigte sich nicht bei der zum Vergleich mitgeführten kalziumabhängigen Bienengift-PLA₂ (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Einfluss von Kalziumionen auf die PLA₂-Aktivität im Humanserum im Vergleich zur Bienengift-PLA₂. Modifiziert nach Lasch et al. 2003.

Zusatz	Aktivität der Serum PLA ₂ [%]	Aktivität der Bienengift-PLA ₂ [%]
ohne Zusatz	100 %	100 %
1 mM Ca ²⁺	23,6 %	-
2 mM Ca ²⁺	10,8 %	146,6 %
5 mM Ca ²⁺	7,5 %	-
5 mM EGTA	88,3 %	0,4 %

Diese Ergebnisse zeigen, daß es sich im Gegensatz zur klassischen kalziumabhängigen PLA₂ der Gruppe I, wie sie beispielsweise im Bienengift vorkommt, bei der im Serum nachgewiesenen PLA₂-Aktivität überwiegend um die einer kalziumunabhängigen PLA₂

handelt. Unterstützt wird diese Erkenntnis dadurch, daß es durch den Inhibitor BEL zu einer fast vollständigen Hemmung der mit der NBD-Methode gemessenen PLA₂-Aktivität kam. BEL (Bromoenol Lacton) ist als spezifischer Inhibitor kalziumunabhängiger PLA₂ bekannt (Ackermann et al. 1995).

3.5. Messablauf

Vor Beginn der eigentlichen Messreihe wurde eine Portion jeder Serumprobe aufgetaut und der Eiweißgehalt des Serums nach der Lowry Methode bestimmt (mg EW / mg Serum). Zur Bestimmung der PLA₂-Aktivität erfolgte anschließend die Herstellung von 100µl Reaktionsansatz aus 80µl HEPES-Puffer (N-2-hydroxyethylpiperazin-N-2-ethan-sulfonsäure; pH 7,4; 0,05M), 10µl 1:30 verdünntem Serum (Verdünnung ebenfalls mit HEPES-Puffer) und 10µl NBD-PC (200µM). In diesem Reaktionsansatz findet bereits die enzymatische Spaltung des NBD durch die im Serum enthaltene PLA₂ statt. Der Ansatz wurde anschließend 15 Minuten bei 37°C inkubiert. Danach wurde im zweiminütigen Takt jeweils zweimal 1µl des Reaktionsansatzes auf kleine HPTLC Platten (Kieselgel 60, 5x5cm, Merck, Darmstadt, Deutschland) pipettiert. Zwischen jeder Auftragung wurde die Spritze mit Cyclohexan und Ethanol gespült. Die Trocknung der Platten erfolgte für fünf Minuten bei Raumtemperatur und anschließend für fünf Minuten bei 37°C.

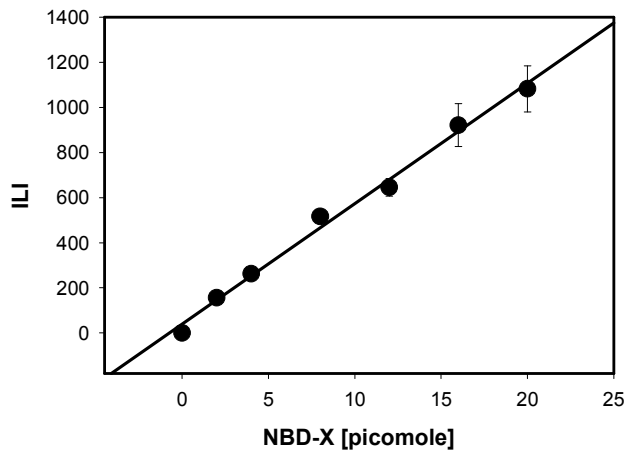
Nach dem Trockenvorgang erfolgte die chromatographische Trennung. Die Trennung erfolgte im DESAGA-System 1201 35 (Heidelberg, Deutschland) unter Verwendung des Laufmittels nach Fisher (6,5ml Chloroform + 3,5ml Methanol + 0,5ml Ammoniak + 0,25ml H₂O dest.) über einen Zeitraum von sieben bis acht Minuten. Dieser Abschnitt wird auch „Entwickeln“ genannt. Es kommt dabei in Abhängigkeit von den Eigenschaften der Platten, des Laufmittels sowie der Bestandteile des Reaktionsansatzes zu einer Auftrennung der Reaktionsprodukte. Kleinere Moleküle entfernen sich weiter vom Auftragungsort als größere. Auf diese Weise wird sichergestellt, daß die Fluoreszenz des Produktes (NBD-X) getrennt von der Fluoreszenz des Restsubstrates (NBD-PC) gemessen wird. Die gesamte Messdurchführung (Auftragung, Inkubation, Trocknen, Laufen) wurde unter abgedunkelten Bedingungen durchgeführt. Auf einer Platte fand jeweils gleichzeitig die Messung der PLA₂-Aktivität zweier Serumproben in zweifacher Auftragung statt. Außerdem wurden auf jeder Platte zwei Positivkontrollen, mit jeweils einer definierten Menge des Spaltproduktes NBD-X (Molecular Probes Europe BV, Leiden, Niederlande) mitgeführt. Dadurch war eine eindeutige Identifizierung der NBD-X Bande im Messansatz möglich. Die Positivkontrollen dienten gleichzeitig als Eichwerte. Der erste Eichwert entspricht einer 8µM Lösung des Spaltproduktes NBD-X (460µl HEPES-

Puffer [pH 7,4; 0,05M]; 500µl RSA-Stammlösung [14mg / 1ml Hepes] und 40µl NBD-X 200µM). Der zweite Eichwert entspricht einer 4µM NBD-X Lösung (480µl HEPES-Puffer [pH 7,4; 0,05M]; 500µl RSA-Stammlösung [14mg / 1ml Hepes] und 20µl NBD-X 200µM).

Die so entstandenen Produktlaufbanden wurden durch UV-Beleuchtung (Auflegen der Platte auf einen Transilluminator mit 360nm Strahlungswellenlänge) sichtbar gemacht. Dazu wurde der UV-Transilluminator PHERO-LUM (Biotec-Fischer GmbH, Reiskirchen, Deutschland) verwendet. Die so beleuchtete Platte wurde mit dem digitalen Videosystem (Movie TV II von Fast Multimedia AG, München, Deutschland) fotografiert und im TIF Format gespeichert. Dieses Bildformat zeichnet sich gegenüber anderen Formaten durch den größten Helligkeitstonumfang aus, was für die Genauigkeit der weiteren Quantifizierung wichtig ist.

Im nächsten Schritt erfolgte die computerisierte Berechnung der Enzymaktivitäten. Dazu wurden unter der Verwendung des BAY-Sys 1D Analyseprogramms von Biotec-Fischer zunächst die fotografierten fluoreszierenden Areale (Spots) pixelweise in eine Grauwertskala umgewandelt. Die nun pixelweise bestimmten Lichtintensitäten (in Form von Grauwerten) wurden anschließend über eine vorher definierte Referenzlichtfläche (Spotarea) integriert. Daraus ergaben sich wiederum Werte, die die Lichtintensität des gesamten Spots, d.h. das „Lichtintegral“ der jeweiligen Produktbande, mit der Maßeinheit „Integrierte Licht Intensität, ILI“ beinhalten. Anhand der mitgeführten, in der Konzentration bekannten Positivkontrolle (siehe Abbildung 10) und der im Vorfeld der Untersuchung angefertigte Eichkurve (siehe Abbildung 11) konnten die errechneten ILI in eine Produktkonzentration umgerechnet werden. Bei der Eichkurve wurden die gemessenen Lichtintensitäten gegen die verwendeten Konzentrationen des Produktes NBD-X [pmol] aufgetragen. Es errechnete sich die Regressionsgerade $y = 53,37x + 38,98$ und dem Variationskoeffizienten $r^2 = 9,978$.

Die ermittelten Produktkonzentrationen NBD-X [pmol] wurden durch die jeweiligen Inkubationszeiten dividiert und anschließend auf die gewählte Serumverdünnung (1:30) normalisiert. Aus der Messung ergab sich die PLA₂-Volumenaktivität [pmol NBD-X / min / µl Serum]. Bei der ebenfalls errechneten spezifischen PLA₂-Aktivität wurde der ermittelte Umsatz [pmol NBD-X / min] auch noch auf den Proteingehalt [mg EW / ml Serum] normalisiert. Dadurch wurden Vergleiche zwischen den einzelnen Seren möglich, da sich diese in der Gesamteiweißkonzentration unterscheiden.

**Abbildung 11:**

Eichkurve. Zusammenhang zwischen Konzentration des NBD-PC Spaltproduktes NBD-X und der gemessenen Fluoreszenz in Integrierten Licht Intensitäten (ILI).

3.6. PLA₂ im Liquor und im Serum

Da die Schizophrenie ein zentraler Prozess ist, stellt sich die Frage, ob die im peripheren Blut gemessene PLA₂ überhaupt eine Aussage über die PLA₂ im ZNS zulässt. Ergebnisse der Kooperation mit der Hallenser Arbeitsgruppe (Prof. J. Lasch, Dr. I. Willhardt) zeigten, daß die im Serum gemessene Phospholipase auch im Liquor nachweisbar ist. Im Folgenden soll das Verfahren kurz erläutert werden. Zunächst wurden mittels gelelektrophoretischer Auftrennung der Serumproteine mehrere Proteinbanden mit einer PLA₂-Aktivität gegenüber dem fluorogenen Substrat NBD-PC dargestellt. Wie bereits beschrieben ist dieses Substrat spezifisch für eine kalziumunabhängige PLA₂. Die Proteinbande mit einer Molmasse von 45 kDa zeigte dabei die höchste Aktivität.

Dieses PLA₂-aktive Serumprotein wurde als Antigen für die Erzeugung eines polyklonalen Antikörpers in Kaninchen hochgereinigt. Das gelang durch zwei aufeinanderfolgende Säulentechniken (Hydrophobic Interaction Chromatography (HIC) und Ionenaustauschchromatographie) sowie eine sich anschließende präparative Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAG).

Abbildung 12 zeigt unter A die elektrophoretische Übereinstimmung der PLA₂ aus Humanserum (Bahn 1), mit der im Liquor enthaltenen PLA₂ (Bahn 2, konzentrierter Liquor). Auch in einer Original-Liquorprobe (Bahn 3, nicht konzentriert) ist die 45 kDa PLA₂-Proteinbande noch sichtbar. B zeigt einen Blot von A auf Nitrozellulosefolie, angefärbt unter Verwendung des in Kaninchen generierten polyklonalen Antikörpers gegen die Serum-PLA₂ (45 kDa). Dabei ist zu erkennen, daß der Antikörper gegen die Serum-PLA₂ sogar im noch nicht konzentrierten Liquor ein PLA₂-aktives Protein mit einer Molmasse von 45 kDa markiert. In geringerem Maße wird auch die 90-100 kDa-Bande durch den polyklonalen

Antikörper angezeigt. Das spricht für das Vorhandensein vergleichbarer determinanter Gruppen an diesem Protein oder für das Entstehen von Dimeren aus den 45 kDa Proteinen.

Schlußendlich kann davon ausgegangen werden, daß die gemessenen peripheren PLA₂-Aktivitäten sich auf das zentrale Nervensystem übertragen lassen und somit Rückschlüsse auf pathogenetische Prozesse bei schizophrenen Erkrankungen erlauben.

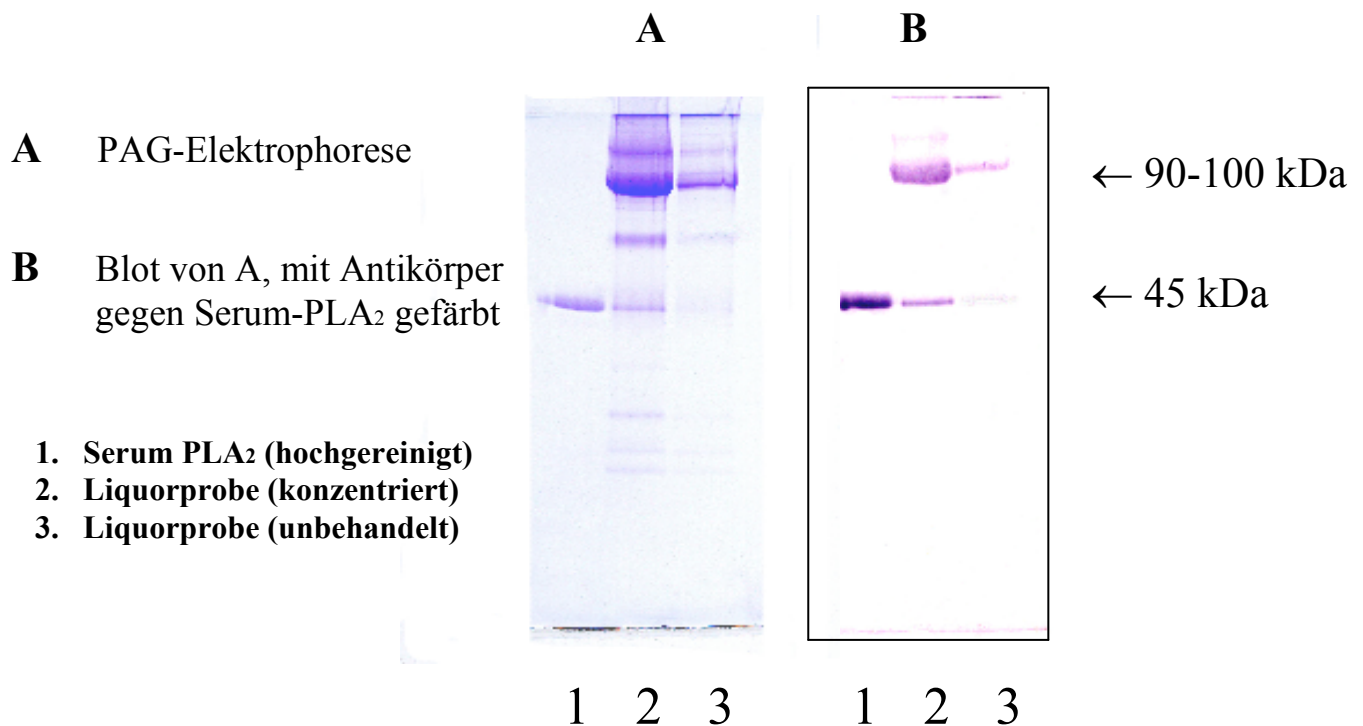


Abbildung 12:

Markierung von Serum- und Liquor-PLA₂ mit einem Antikörper gegen Serum-PLA₂.

3.7. Statistische Analyse

Alle statistischen Analysen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 13.0 durchgeführt. In Vorbereitung der statistischen Datenanalyse wurden zunächst alle erforderlichen Informationen zusammengetragen und in einer Tabelle dargestellt. In diese gingen sowohl die PLA₂-Volumenaktivität als auch die spezifische PLA₂-Aktivität ein. Beide Parameter wurden statistisch ausgewertet. Aufgrund der besseren Vergleichbarkeit der Proben untereinander und auch homologer Ergebnisse in der Auswertung, beziehen sich die nachfolgenden Ausführungen nur auf die spezifische PLA₂-Aktivität. Nichtparametrische Variablen, wie Geschlecht, Gruppenzugehörigkeit (Patient vs. Kontrolle) und Medikation wurden numerisch kodiert.

Von den vorliegenden Rohwerten der psychopathologischen Tests (BPRS, SANS und PANSS) wurden jeweils der Gesamtscore und die Gruppenscores (siehe Tabelle 7) berechnet.

Tabelle 7: Berechnung der psychopathologischen Gruppenscores.

Bezeichnung der Variable		Erläuterung
BPRS	positive Subskala 1	Items 9, 10, 11, 15
	positive Subskala 2	Items 6, 8, 9, 10, 11, 15, 21, 24
	negative Subskala 1	Items 16, 17
	negative Subskala 2	Items 14, 16, 17, 18, 20
	mood Subskala	Items 1, 2, 3, 5
	Gesamt	Summenscore der BPRS (Items 1 – 24)
SANS	Subskala 1	Affektverflachung (Items 1 – 8)
	Subskala 2	Alogie (Items 9 – 13)
	Subskala 3	Abulie / Apathie (Items 14 – 17)
	Subskala 4	Anhedonie (Items 18 – 22)
	Subskala 5	Aufmerksamkeit (Items 23 – 25)
	Gesamt	Summenscore der SANS (Items 1 – 25)
PANSS	positive Subskala	Items P1 – P7
	negative Subskala	Items N1 – N7
	allgemeine Subskala	Items G1 – G16
	Gesamt	Summenscore der PANSS (Items P1 – G16)

Um eine Aussage über die Ansprechbarkeit auf Neuroleptika zu erlangen, wurden die Differenzen der Gruppen- und Gesamtscores zwischen den Zeitpunkten W_0 und W_{12} berechnet. Dabei spiegeln positive Differenzen ($W_0 - W_{12}$) bei BPRS, SANS und PANSS eine Verbesserung der psychopathologischen Parameter und positive Differenzen ($W_{12} - W_0$) bei GAF und SOFAS eine Verbesserung der funktionellen Parameter wider. Dieser Sachverhalt kann auch noch einmal in Kapitel 4.5., Tabelle 8 nachvollzogen werden.

3.7.1. Verwendete Verfahren

Zur Überprüfung der Anwendbarkeit bestimmter statistischer Verfahren war es zunächst notwendig, die Messwerte auf Verteilungstyp und Varianzhomogenität hin zu untersuchen. Die Zulässigkeit einer Varianzanalyse (Analysis of Variance, ANOVA) und der parametrischen Korrelation r nach Pearson waren zu prüfen. Diese parametrischen Verfahren setzen normalverteilte Messwerte sowie eine Varianzhomogenität der Messwerte voraus. Ob eine Normalverteilung der Daten ausgeschlossen war, prüften wir mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test nach Lilliefors, eine Untersuchung auf Varianzhomogenität mit dem Levene-Test der Varianzgleichheit. In der vorliegenden Stichprobe erreichten beide Tests das Signifikanzniveau nicht, was bedeutet, daß weiterhin von einer Varianzhomogenität und einer Normalverteilung der Daten ausgegangen werden konnte und die Verwendung der nachfolgend genannten parametrischen Verfahren gerechtfertigt war.

Die Auswertung begann zunächst mit einer deskriptiven Statistik der Basisdaten, bei der die Durchschnittsalter mit Standardabweichung der jeweiligen Gruppen mittels eines Mittelwert-Tests berechnet wurden. Abweichungen von der Normalverteilung sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe wurden mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Testes geprüft. Auf Unterschiede in der Geschlechterverteilung der Gruppen wurde mit dem Chi-Quadrat-Test geprüft.

Im nächsten Untersuchungsschritt wurde der Einfluß epidemiologischer Parameter (wie z.B. Alter, Geschlecht oder Medikation) auf die PLA₂-Aktivität geprüft. Hierbei kamen Kovarianz- und Korrelationsanalysen zum Einsatz.

Zur Analyse der Gruppenunterschiede zwischen Patienten- und Kontrollgruppe hinsichtlich der PLA₂-Aktivität wurden Varianzanalysen gerechnet, da hierbei im Unterschied zu t-Tests neben der inferenzstatistischen Prüfgröße auch der Anteil der durch die Gruppenzugehörigkeit aufgeklärten Varianz der jeweils abhängigen Variable mit angegeben werden kann. Die ENZYMAKTIVITÄT ging als abhängige Variable, der STATUS (Patient vs. Kontrolle) als unabhängige Variable in die Analyse ein.

In analoger Weise wurde auch eine Subgruppenanalyse zwischen NL-naïven und medizierten Patienten, sowie die Untersuchung der PLA₂-Aktivität zur 2. Meßgelegenheit (W₁₂) im Vergleich zu den Kontrollen durchgeführt. Eine Varianzanalyse mit Meßwiederholung kam für die Untersuchung einer möglichen Niveauveränderung zwischen den beiden Meßzeitpunkten zum Einsatz. Mögliche Beziehungen zwischen der PLA₂-Aktivität und den psychopathologischen Gesamt- und Gruppenvariablen zum Zeitpunkt W₀, W₁₂ und den Differenzvariablen wurden mit dem Verfahren der parametrischen Korrelation nach Pearson geprüft. Da sich in der weiteren Exploration der Daten herausstellte, daß psychopathologische Items mit dem Alter bzw. dem Geschlecht der Patienten korrelierten, wurden nachfolgend partielle Korrelationen berechnet, wobei für das Alter und das Geschlecht statistisch kontrolliert wurde.

3.7.2. Signifikanzniveau

Als Signifikanzniveau wurde für alle statistischen Tests $p \leq 0,05$ festgelegt. Eine Ausnahme bilden die Korrelationsanalysen der PLA₂ mit den psychopathologischen Variablen. Hier wurde die durch die PLA₂ aufgeklärte Varianz geprüft. Aufgrund der Vielzahl analysierter Korrelationskoeffizienten wurden schwache Korrelationen durch einen Anteil aufgeklärter Varianz von über 5%, starke Korrelationen durch einen Anteil aufgeklärter Varianz von über 10% definiert.

4. AUSWERTUNG

4.1. Demographische Parameter

Insgesamt befanden sich in der Untersuchungsstichprobe 70 Personen: 48 ersterkrankte Schizophreniepatienten zwischen 15 und 25 Jahren und 22 gesunde Kontrollpersonen, ebenfalls zwischen 15 und 25 Jahren. Wie bereits in Tabelle 4 dargestellt, liegt das Durchschnittsalter der Patienten bei 19,41 (\pm 2,94 SD) Jahren und das der Kontrollen bei 20,60 (\pm 3,11 SD) Jahren. In bezug auf das Alter fand sich kein signifikanter Gruppenunterschied ($F(1,68)=2,370$; $p=0,128$). Sowohl in der Patienten- als auch in der Kontrollgruppe ergab der Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung keine signifikanten Abweichungen (Patienten: $p=0,704$; Kontrollen: $p=0,812$).

Obwohl in der Patientengruppe der Anteil männlicher Personen höher war (72,9% gegen 59,1% bei der Kontrollgruppe), unterschieden sich Patienten- und Kontrollgruppe hinsichtlich des Geschlechts statistisch nicht signifikant ($\chi^2=1,338$; $df=2$; $p=0,247$).

4.2. Aktivität der PLA₂ und epidemiologische Parameter

Im nächsten Untersuchungsschritt wurde die Frage untersucht, ob ein möglicher Einfluß von epidemiologischen Parametern auf die PLA₂-Aktivität besteht. Hierzu wurden Kovarianz- und Korrelationsanalysen durchgeführt, in die neben der Enzymaktivität folgende Variablen eingingen:

1. *Demographische Variablen (Alter und Geschlecht).*

Bezüglich des Geschlechts zeigte sich bei den männlichen Patienten eine signifikant höhere PLA₂-Aktivität als bei den weiblichen Patienten ($F(1,46)=4,877$; $p=0,032$). Dieser Gruppenunterschied zeigte sich bei den gesunden Kontrollen nicht ($F(1,20)=0,690$; $p=0,416$). Aus diesem Grund ging die Variable Geschlecht bei allen weiteren Analysen als Kovariate ein. Ein korrelativer Zusammenhang zwischen dem

Alter und der PLA₂-Aktivität konnte weder bei den Patienten (n=48, r=0,230; p=0,116) noch bei den Kontrollen (n=22; r=0,373; p=0,088) statistisch belegt werden.

2. *Antipsychotische Medikation der Patienten zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme.*

Um möglichen Effekten der Medikation auf die PLA₂-Aktivität innerhalb der Patientengruppe nachzugehen, wurde ein Gruppenvergleich zwischen zum Untersuchungszeitpunkt bereits behandelten und noch unbehandelten Patienten durchgeführt. In diese Analyse gingen 16 NL-naïve und 32 medizierte Patienten ein, von denen, wie bereits beschrieben, niemand mehr als 6 Tage ein Neuroleptikum erhalten hatte. Das Geschlecht wurde, wie vorbeschrieben, als Kovariate in der Analyse berücksichtigt. **Im Ergebnis zeigte sich kein signifikanter Gruppenunterschied zwischen NL-naïven und medizierten Patienten zum Zeitpunkt W₀ (F(1,45)=0,21; p=0,650).**

3. *Dauer der unbehandelten Psychose.*

Die Zeit vom ersten psychotischen Symptom bis zur stationären Aufnahme lag bei den Patienten zwischen 4 Tagen und 48 Monaten. Durchschnittlich betrug die Dauer der unbehandelten Psychose 6,78 Monate. **Es zeigte sich kein signifikanter korrelativer Zusammenhang zwischen der unbehandelten Erkrankungsdauer und der PLA₂-Aktivität zum Zeitpunkt W₀ (n=48; r=-0,055; p=0,720).**

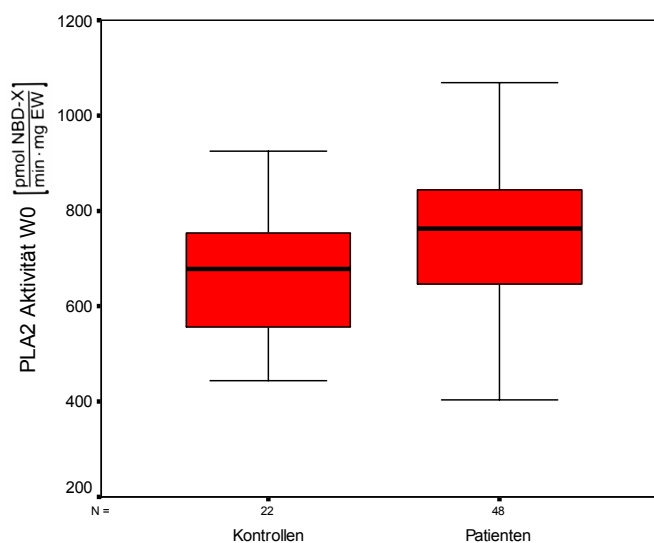
4. *Familiengeschichte bezüglich Geisteskrankheiten.*

Bezüglich psychiatrischer Erkrankungen zeigten 22 Patienten eine positive Familienanamnese. **Eine Subgruppenanalyse der Patienten mit und ohne positive Familienanamnese zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zur Aktivität der PLA₂ zum Zeitpunkt W₀ (F(1,45)=0,857; p=0,432).**

4.3. Gruppenvergleich der PLA₂ zwischen Patienten und Kontrollen

Bei der Analyse von Gruppenunterschieden der PLA₂-Aktivität zwischen Patienten- und Kontrollgruppe wurde zur Kontrolle der beschriebenen Interaktion von Geschlecht und PLA₂-Aktivität eine Kovarianzanalyse durchgeführt. **Zum Zeitpunkt W₀ zeigte sich ein signifikanter Gruppenunterschied bei der Enzymaktivität zwischen Patienten und Kontrollen (F(1,67)=6,421; p=0,014).** Siehe dazu Abbildung 13.

Abbildung 13:
Gruppenunterschied (Patienten vs. Kontrollen) der PLA₂-Aktivität. Zusätzlich zu dem Boxplot sind die statistischen Daten tabellarisch dargestellt.



	Kontrolle vs. Patient	N	Mittelwert	Standardabweichung	Inferenzstatistik (Effektstärke: η^2)
Enzymaktivität W ₀	Kontrollen	22	679,15	138,45	F(1,67)=6,421; p=0,014 ($\eta^2=0,089$)
	Patienten	48	763,12	147,52	

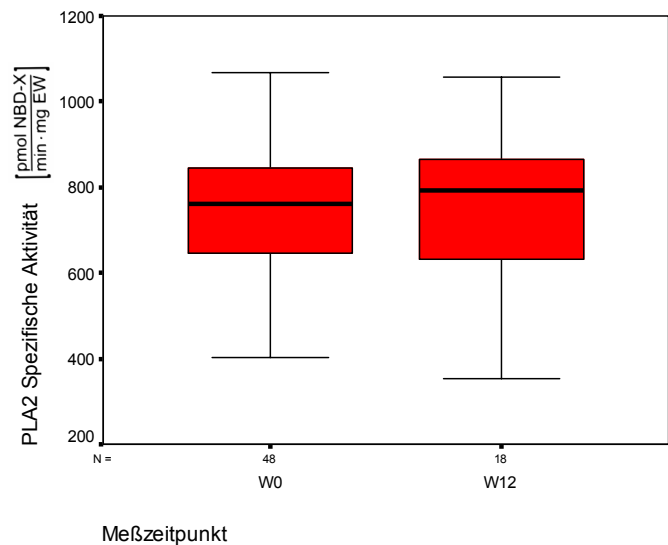
4.4. PLA₂-Aktivität zum Zeitpunkt W₁₂

Zur Analyse der Fragestellung, ob sich das PLA₂-Niveau der Patienten nach 12 Wochen Behandlung mit atypischen Neuroleptika dem Niveau der Kontrollgruppe angleicht, wurden die PLA₂-Werte der Patientengruppe zum Zeitpunkt W₁₂ in bezug gesetzt zu den PLA₂-Werten der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt W₀. Da hierfür nur Daten von 18 Patienten vorlagen, wurden die Mittelwertunterschiede dieser 18 Patienten zum Zeitpunkt W₀ im Vergleich zur Kontrollgruppe nochmals spezifisch verglichen. Analog zu den Analysen mit der Gesamtpatientengruppe ergab sich ein signifikanter Unterschied (F(1,36)=5,046; p=0,031; $\eta^2=0,123$), der tendenziell aber etwas schwächer ausfiel. **Nach 12 Wochen konnte kein signifikanter Gruppenunterschied zwischen den behandelten Patienten und den gesunden Kontrollen mehr nachgewiesen werden (F(1,36)=3,153; p=0,084; $\eta^2=0,081$).**

Innerhalb der Patientengruppe zeigte eine Varianzanalyse mit Meßwiederholung allerdings keine signifikante Niveauveränderung zwischen den beiden Meßgelegenheiten ($F(1,17)=0,289$; $p=0,598$). Siehe dazu auch Abbildung 14.

Abbildung 14:

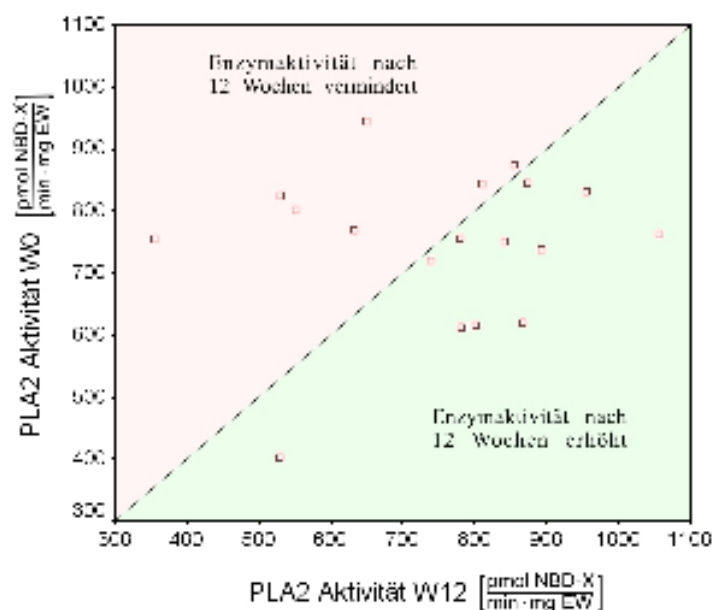
Boxplot. Obwohl zur 2. Meßgelegenheit kein Gruppenunterschied zwischen Patienten und Kontrollen mehr gezeigt werden konnte, blieb das PLA_2 -Niveau innerhalb der Patientengruppe stabil.



Weiterhin fiel auf, daß die PLA_2 -Aktivitäten zum Zeitpunkt W_0 und zum Zeitpunkt W_{12} korrelativ erstaunlich gering zusammenhängen ($n=18$; $r=0,136$), was bedeutet, daß relativ große interindividuelle Unterschiede in intraindividuellen Veränderungen bestehen (Abbildung 15). Ein spezifisches Muster in diesen Veränderungen ließ sich nicht finden. Ein Zusammenhang zwischen dem Änderungsprofil und anderen Variablen, wie beispielsweise der Medikation oder den psychopathologischen Scores, zeigte sich nicht. Oder anders gesagt, es ließ sich kein diskriminierender Faktor finden, der die 7 Patienten, die nach 12 Wochen eine verminderte Aktivität zeigten, von den 11 Patienten, die nach 12 Wochen eine erhöhte Aktivität zeigten, abgrenzt.

Abbildung 15:

Streudiagramm. Aufgetragen sind die Enzymaktivitäten der Patienten zum Zeitpunkt W_0 und W_{12} .



4.5. Psychopathologie und PLA₂-Aktivität

Wie bereits beschrieben, wurden die psychischen Symptome (anhand der BPRS, PANSS und SANS) und das Funktionsniveau (anhand der GAF und SOFAS) zum Zeitpunkt W_0 und zum Zeitpunkt W_{12} erfasst. Von den vorliegenden Rohwerten der psychopathologischen Tests wurden jeweils der Gesamtscore und die Gruppenscores berechnet. Die Differenzvariablen zwischen den Zeitpunkten W_0 und W_{12} zeigen das Therapieansprechen psychischer Symptome an. Dabei spiegeln positive Differenzen immer eine Verbesserung psychopathologischer bzw. funktioneller Parameter wider. Einen Übersicht über die Gesamtscores zum Zeitpunkt W_0 , W_{12} und die berechneten Differenzen zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8:

Deskriptive Statistik der psychopathologischen Daten der Patienten (n=48). Die Differenzvariablen (gelb markiert) zeigen die mittlere Besserung psychischer Symptome nach 12wöchiger Behandlung an.

Test	Zeitpunkt	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
BPRS	W_0	41	87	62.79	9.086
	W_{12}	25	68	42.64	10.268
	$W_0 - W_{12}$	3	37	19.18	7.414
PANSS	W_0	51	112	78.81	16.416
	W_{12}	35	89	56.56	14.797
	$W_0 - W_{12}$	3	43	22.90	10.450
SANS	W_0	3	96	41.60	23.692
	W_{12}	3	73	27.48	20.190
	$W_0 - W_{12}$	-28	50	13.09	15.536
GAF	W_0	18	70	47.55	11.496
	W_{12}	41	85	63.21	11.879
	$W_{12} - W_0$	-6	55	17.64	13.460
SOFAS	W_0	28	70	49.77	11.553
	W_{12}	41	85	61.67	12.727
	$W_{12} - W_0$	-5	60	14.70	15.113

Zur Analyse der Fragestellung, ob die PLA₂-Aktivität zum Zeitpunkt W_0 mit der Schwere und dem Verlauf der Erkrankung in Verbindung steht, wurden Korrelationsanalysen durchgeführt, in die sowohl die Daten der Gesamt- und Subgruppenscores der psychopathologischen Ratings zum Zeitpunkt W_0 (Tabelle 9) und W_{12} als auch die Differenzvariablen zwischen W_0 und W_{12} (Tabelle 10) eingingen. Korrelationen mit einem Anteil aufgeklärter Varianz von über 5% sind in den nachfolgenden Tabellen hellgelb markiert, Korrelationen mit einem Anteil aufgeklärter Varianz von über 10% sind dunkelgelb markiert und zeigen stärkere Korrelationen an.

Tabelle 9: Korrelationen zwischen den psychopathologischen Scores zum Zeitpunkt W₀ und der PLA₂-Aktivität.

Psychopathologische Scores zum Zeitpunkt W ₀			PLA ₂ Aktivität W ₀	Alter	Geschlecht
GAF Gesamt	Korrelation		-0.341	-0.215	-0.007
	Signifikanz		0.024	0.161	0.964
	VA [%]		11.62	4.63	0.00
SOFAS Gesamt	Korrelation		-0.349	-0.041	-0.046
	Signifikanz		0.020	0.792	0.767
	VA [%]		12.20	0.17	0.21
BPRS Gesamt	Korrelation		0.162	0.358	-0.132
	Signifikanz		0.270	0.012	0.372
	VA [%]		2.64	12.83	1.74
BPRS positive Subskala 1	Korrelation		-0.064	0.235	-0.068
	Signifikanz		0.667	0.108	0.645
	VA [%]		0.41	5.51	0.46
BPRS positive Subskala 2	Korrelation		-0.037	0.098	-0.114
	Signifikanz		0.802	0.509	0.440
	VA [%]		0.14	0.95	1.30
BPRS negative Subskala 1	Korrelation		0.280	0.380	-0.124
	Signifikanz		0.054	0.008	0.400
	VA [%]		7.84	14.42	1.55
BPRS negative Subskala 2	Korrelation		0.281	0.362	-0.143
	Signifikanz		0.053	0.011	0.333
	VA [%]		7.88	13.14	2.04
BPRS mood Subskala	Korrelation		0.095	0.184	0.086
	Signifikanz		0.521	0.212	0.562
	VA [%]		0.90	3.37	0.73

PLA ₂ Aktivität W ₀	part. Korr. W ₀
-0.398	
0.036	
15.84	
-0.420	
0.026	
17.66	
0.011	
0.958	
0.01	
-0.134	
0.496	
1.80	
-0.189	
0.335	
3.58	
0.274	
0.159	
7.49	
0.258	
0.186	
6.64	
0.019	
0.923	
0.04	

Bei den Korrelationsanalysen fiel auf, daß psychopathologische Items mit dem Alter und dem Geschlecht der Patienten korreliert sind. Diese Korrelationen sind ebenfalls in den folgenden zwei Tabellen angegeben. Aus diesem Grund wurden zur weiteren Analyse partielle Korrelationen berechnet. Partielle Korrelationen ermöglichen, den Einfluß von Drittvariablen (in diesem Fall Alter und Geschlecht) zu kontrollieren. Von besonderer Bedeutsamkeit sind daher jeweils die rot markierten rechten Spalten.

Legende:

aufgeklärte Varianz > 5 %

aufgeklärte Varianz > 10 %

ROT Partielle Korrelationen,
Kontrollvariablen Alter und
Geschlecht

Fortsetzung Tabelle 9: Korrelationen zwischen den psychopathologischen Scores zum Zeitpunkt W₀ und der PLA₂-Aktivität.

Psychopathologische Scores zum Zeitpunkt W ₀			PLA ₂ Aktivität W ₀	Alter	Geschlecht
PANSS Gesamt	Korrelation		0.275	0.474	-0.151
	Signifikanz		0.074	0.001	0.334
	VA [%]		7.57	22.50	2.28
PANSS positive Subskala	Korrelation		-0.003	0.321	-0.108
	Signifikanz		0.987	0.036	0.489
	VA [%]		0.00	10.29	1.17
PANSS negative Subskala	Korrelation		0.380	0.447	-0.220
	Signifikanz		0.012	0.003	0.157
	VA [%]		14.48	20.02	4.83
PANSS allgemeine Subskala	Korrelation		0.205	0.370	-0.058
	Signifikanz		0.188	0.014	0.711
	VA [%]		4.19	13.72	0.34
SANS Gesamt	Korrelation		0.319	0.415	-0.280
	Signifikanz		0.029	0.004	0.057
	VA [%]		10.19	17.23	7.81
SANS Subskala 1 Affektverflachung	Korrelation		0.307	0.339	-0.260
	Signifikanz		0.036	0.020	0.077
	VA [%]		9.45	11.47	6.77
SANS Subskala 2 Alogie	Korrelation		0.200	0.403	-0.304
	Signifikanz		0.177	0.005	0.038
	VA [%]		4.01	16.21	9.26
SANS Subskala 3 Abulie	Korrelation		0.293	0.299	-0.263
	Signifikanz		0.046	0.041	0.075
	VA [%]		8.57	8.93	6.89
SANS Subskala 4 Anhedonie	Korrelation		0.280	0.439	-0.179
	Signifikanz		0.057	0.002	0.227
	VA [%]		7.82	19.26	3.22
SANS Subskala 5 Aufmerksamkeit	Korrelation		0.257	0.272	-0.204
	Signifikanz		0.081	0.064	0.169
	VA [%]		6.61	7.43	4.17

PLA ₂ Aktivität W ₀	part. Korr.
0.155	
0.430	
2.42	
-0.363	
0.058	
13.17	
0.391	
0.040	
15.25	
0.134	
0.497	
1.79	
0.261	
0.180	
6.82	
0.295	
0.127	
8.73	
0.071	
0.721	
0.50	
0.247	
0.206	
6.08	
0.289	
0.135	
8.37	
0.013	
0.948	
0.02	

Im Ergebnis zeigten sich zum Zeitpunkt W₀ deutliche negative Korrelationen zwischen der PLA₂-Aktivität und den funktionellen Parametern GAF und SOFAS. Weiterhin zeigten sich mehrere Verbindungen der PLA₂-Aktivität insbesondere zu negativsymptomatischen Scores (negative Subskala 1 und 2 der BPRS, negative Subskala der PANSS, Gesamt- und Subskalen 1,3 und 4 der SANS), die tendenziell aber eher schwach ausgeprägt waren.

Bei den positivsymptomatischen Skalen fand sich als einziges eine signifikante Beziehung der Enzymaktivität zu der positiven Subskala der PANSS. Korrelationen zu anderen positivsymptomatischen Skalen blieben unterhalb der Signifikanzgrenze.

Zum Zeitpunkt W₁₂ zeigten sich keine Korrelationen zwischen PLA₂-Aktivität und Psychopathologie.

Tabelle 10: Korrelationen zwischen Besserung der psychopathologischen Scores und der PLA₂-Aktivität zu W₀.

Besserung psychopathologischer Scores nach 12 Wochen			PLA ₂ Aktivität W ₀	Alter	Geschlecht
GAF Gesamt	Korrelation		0.040	-0.205	0.361
	Signifikanz		0.823	0.253	0.039
	VA [%]		0.16	4.20	13.06
SOFAS Gesamt	Korrelation		0.006	-0.392	0.425
	Signifikanz		0.975	0.024	0.014
	VA [%]		0.00	15.41	18.10
BPRS Gesamt	Korrelation		-0.022	-0.163	0.119
	Signifikanz		0.903	0.365	0.509
	VA [%]		0.05	2.66	1.42
BPRS positive Subskala 1	Korrelation		-0.275	-0.423	0.356
	Signifikanz		0.121	0.014	0.042
	VA [%]		7.58	17.92	12.71
BPRS positive Subskala 2	Korrelation		-0.292	-0.498	0.329
	Signifikanz		0.099	0.003	0.062
	VA [%]		8.52	24.79	10.83
BPRS negative Subskala 1	Korrelation		0.390	0.371	-0.202
	Signifikanz		0.025	0.034	0.260
	VA [%]		15.18	13.73	4.08
BPRS negative Subskala 2	Korrelation		0.482	0.409	-0.272
	Signifikanz		0.005	0.018	0.125
	VA [%]		23.22	16.70	7.41
BPRS mood Subskala	Korrelation		0.027	0.046	0.010
	Signifikanz		0.883	0.800	0.956
	VA [%]		0.07	0.21	0.01

PLA₂ Aktivität W₀

part. Korr.

0.228
0.243
5.21
0.214
0.275
4.56
0.171
0.383
2.94
-0.057
0.772
0.33
-0.051
0.795
0.26
0.367
0.055
13.49
0.400
0.035
16.01
0.054
0.785
0.29

Bezüglich der Besserung psychopathologischer Symptome zeigten sich signifikante Verbindungen zur initialen PLA₂-Aktivität. Auch hier stehen wieder die negativsypmtomatischen Scores im Vordergrund (negative Subskala 1 und 2 der BPRS, negative Subskala der PANSS, Gesamt- und Subskalen 1 und 4 der SANS). Obwohl die positive Subskala der PANSS die einzige signifikante Korrelation positivsypmtomatischer Skalen zur Enzymaktivität zeigte, so ist es doch auffällig, daß die PLA₂-Aktivität mit negativsypmtomatischen Scores immer positiv und mit positivsypmtomatischen Scores immer negativ korreliert ist. Dies ist in der folgenden Abbildung 16 exemplarisch für die positive und negative Subskala der PANSS dargestellt.

Fortsetzung Tabelle 10: Korrelationen zwischen Besserung der psychopathologischen Scores und der PLA₂-Aktivität zu W₀.

Besserung psychopathologischer Scores nach 12 Wochen			PLA ₂ Aktivität W ₀	Alter	Geschlecht
PANSS Gesamt	Korrelation		0.286	0.122	0.063
	Signifikanz		0.126	0.519	0.741
	VA [%]		8.16	1.50	0.40
PANSS positive Subskala	Korrelation		-0.364	-0.175	0.183
	Signifikanz		0.048	0.355	0.332
	VA [%]		13.26	3.06	3.36
PANSS negative Subskala	Korrelation		0.495	0.240	-0.120
	Signifikanz		0.005	0.201	0.529
	VA [%]		24.48	5.77	1.43
PANSS allgemeine Subskala	Korrelation		0.262	0.103	0.078
	Signifikanz		0.162	0.589	0.682
	VA [%]		6.87	1.05	0.61
SANS Gesamt	Korrelation		0.342	0.179	-0.207
	Signifikanz		0.055	0.328	0.256
	VA [%]		11.70	3.19	4.28
SANS Subskala 1 Affektverflachung	Korrelation		0.438	0.340	-0.217
	Signifikanz		0.012	0.057	0.234
	VA [%]		19.19	11.58	4.70
SANS Subskala 2 Alogie	Korrelation		0.245	0.196	-0.284
	Signifikanz		0.176	0.283	0.115
	VA [%]		6.01	3.83	8.06
SANS Subskala 3 Abulie	Korrelation		0.062	-0.142	-0.084
	Signifikanz		0.736	0.440	0.646
	VA [%]		0.38	2.00	0.71
SANS Subskala 4 Anhedonie	Korrelation		0.310	-0.008	0.026
	Signifikanz		0.084	0.967	0.887
	VA [%]		9.61	0.01	0.07
SANS Subskala 5 Aufmerksamkeit	Korrelation		-0.093	0.115	-0.176
	Signifikanz		0.614	0.531	0.334
	VA [%]		0.86	1.32	3.12

PLA ₂ Aktivität W ₀	part. Korr. W ₀
0.282	
0.146	
7.95	
-0.324	
0.093	
10.49	
0.458	
0.014	
21.01	
0.263	
0.176	
6.94	
0.345	
0.072	
11.93	
0.387	
0.042	
15.01	
0.171	
0.385	
2.91	
0.200	
0.308	
4.00	
0.374	
0.050	
13.95	
-0.146	
0.460	
2.12	

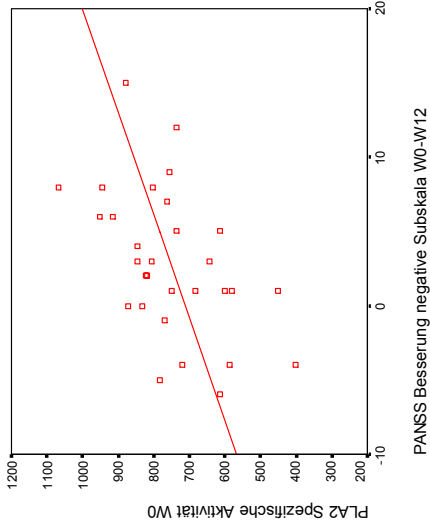
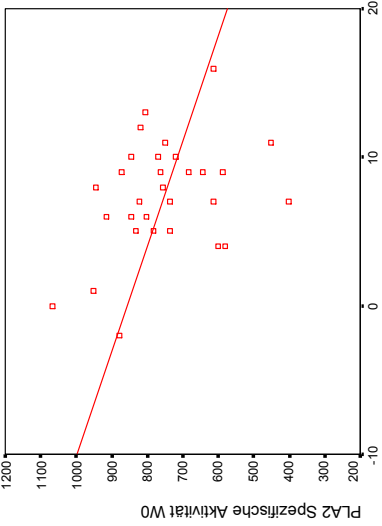


Abbildung 16: Die gegenläufigen Korrelationen bei Positiv- und Negativsymptomatik erklären auch das Ausbleiben von signifikanten Interaktionen bei den Gesamtscores von BPRS und PANSS, da beide Skalen sowohl positiv- als auch negativsymptomatische Items beinhalten.

Um dem Zusammenhang der PLA₂-Aktivität zu positivsymptomatischen Items nochmals spezifisch nachzugehen, wurden aus der Gesamtstichprobe alle Patienten, welche zum Zeitpunkt W₀ vorrangig Negativsymptomatik zeigten, eliminiert. Bei den übrigen nicht negativsymptomatischen Patienten wurden die beschriebenen Korrelationsanalysen wiederholt. Als Diskriminanzkriterium diente der Gesamtscore der SANS, der unter 25 liegen mußte (Wertebereich: 0 bis 125). Es ergab sich eine Gruppengröße von n=13. Bei dieser „Positivgruppe“ zeigten sich nunmehr keine korrelativen Zusammenhänge zwischen der Enzymaktivität und psychopathologischen Testvariablen mehr.

Bei der verbleibenden „Negativgruppe“, welche sozusagen als Gegenprobe diente, zeigten sich die gleichen korrelativen Zusammenhänge bezüglich der Negativsymptomatik wie bei der Gesamtstichprobe. Diese waren tendenziell sogar noch stärker ausgeprägt.

In der Zusammenschau läßt sich somit die Beziehung der Enzymaktivität zur Negativsymptomatik und zu deren Verbesserung im Krankheitsverlauf als Hauptbefund darstellen. Dabei sind hohe Enzymkonzentrationen überzufällig häufig mit einer starken Verbesserung der Negativsymptomatik nach 12 Wochen Behandlung mit Atypika verbunden. In unserer Stichprobe zeigte ab einer initialen PLA₂-Aktivität von > 800 pmol NBD-X / min / mg EW kein Patient eine Verschlechterung in einer der signifikant gewordenen psychopathologischen Skalen.

5. DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mittels einer fluorometrischen, PLA₂-spezifischen Untersuchungsmethode, Veränderungen der Enzymaktivität im Serum ersterkrankter schizophrener Patienten und gesunder Probanden über ein 12wöchiges Behandlungsintervall zu untersuchen. Die Patientenpopulation umfasst eine vergleichsweise große Anzahl unmedizierter Ersterkrankter, von denen $\frac{1}{3}$ bis zum Untersuchungszeitpunkt noch keinerlei neuroleptische Medikation erhalten hatten. Es handelt sich um die erste Studie dieser Größenordnung im Langzeit-Design. Zunächst sollen die beschriebenen Ergebnisse im Kontext der gegenwärtigen Literatur kritisch dargestellt werden.

5.1. Besprechung der Ergebnisse

5.1.1. PLA₂-Gruppenvergleich (Patient vs. Kontrolle) W₀

Bezüglich der PLA₂-Aktivität fanden sich zwischen schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen zu Beginn des Untersuchungsintervalls signifikante Unterschiede. Hierbei zeigte sich die Enzymaktivität bei Patienten gegenüber Kontrollen erhöht.

Dieser Befund entspricht früheren Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe an anderen Populationen unmedizierter schizophrener Patienten und Kontrollen (Lasch et al. 2003, Smesny et al. 2005). Darüber hinaus steht dieses Ergebnis auch in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, die sich mit Aktivitäten kalziumunabhängiger PLA₂-Enzyme bei schizophrenen Psychosen beschäftigt haben (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990, Ross et al. 1997, Ross et al. 1999, Tavares et al. 2003). Einen Überblick über die aktuelle Studienlage findet sich in Kapitel 2.7., Tabelle 3. Die Negativbefunde hinsichtlich einer PLA₂-Erhöhung bei schizophrenen Psychosen (Albers et al. 1993, Katila et al. 1997, Hudson et al. 1999, Ross et al. 1999) stammen aus Arbeiten, die eine kalziumabhängige PLA₂

untersuchten und damit eine andere Assay-Strategie verwendeten. Die methodenspezifischen Aspekte werden an späterer Stelle diskutiert.

5.1.2. PLA₂-Aktivität und Psychopathologie W₀

Ausgehend von einigen ³¹P-MRS- und PLA₂-Studien wurde die Hypothese aufgestellt, daß korrelative Zusammenhänge zwischen PLA₂-Aktivität und Schwere bzw. Ausprägung der Psychopathologie bestehen könnten. Intention der vorliegenden Arbeit war es daher, möglichen Zusammenhängen zwischen erhöhter Enzymaktivität und psychopathologischer Symptomatik nachzugehen.

Psychopathologische Ratings

Bezüglich der Symptomatik der Patienten zu Studienbeginn zeigten sich mehrere Verbindungen der PLA₂-Aktivität zu negativsymptomatischen Scores (negative Subskala 1 und 2 der BPRS, negative Subskala der PANSS, Gesamt- und Subskalen 1,3 und 4 der SANS), die tendenziell aber eher schwach ausgeprägt waren. Bezüglich positivsymptomatischer Skalen fand sich als einziges eine signifikante Beziehung zu der positiven Subskala der PANSS.

Andere Forschungsgruppen konnten ebenfalls Zusammenhänge zwischen Phospholipidalterationen und psychischen Symptomen aufzeigen. Die Befundlage zu diesem Thema ist aber insgesamt noch uneinheitlich.

Bezüglich der Arbeiten, welche direkt den Zusammenhang zwischen der PLA₂ und der Psychopathologie der Patienten untersuchten, berichteten Gattaz et al. (1990) von einer positiven Korrelation zwischen PLA₂-Aktivität und den Summenscores der BPRS. Ross et al. (1997) konnten im Gegensatz zu den vorliegenden Befunden eine schwach positive Korrelation zwischen der PLA₂-Aktivität und Positivsymptomen nachweisen. Allerdings bezogen sich auch hier die signifikanten Ergebnisse auf den positiven Subscore der PANSS. Die Arbeitsgruppe um Tavares konnte keine entsprechenden Zusammenhänge aufdecken (Tavares et al. 2003).

Funktionsparameter

Die Beurteilung des allgemeinen Funktionsniveaus der Patienten erfolgte anhand der Skala zur Globalen Erfassung des Funktionsniveaus (GAF, Kapitel 8.1.4.) und der Skala zur Erfassung des Sozialen und Beruflichen Funktionsniveaus (SOFAS, Kapitel 8.1.5.).

Die GAF-Skala kann insbesondere dazu dienen, umfassende Aussagen über den klinischen Fortschritt des Patienten anhand eines einzigen Maßes zu treffen und zu verfolgen. Auf der GAF-Skala werden nur die psychosozialen bzw. beruflichen Funktionsbereiche beurteilt. Funktionsbeeinträchtigungen aufgrund von körperlichen (oder umgebungsbedingten) Einschränkungen werden nicht einbezogen. Die SOFAS ist eine neue Skala, die sich von der GAF dadurch unterscheidet, daß sie sich ausschließlich auf das soziale und berufliche Funktionsniveau der Person konzentriert und nicht direkt vom Gesamtschweregrad der psychischen Symptome der Person beeinflusst wird. Ebenfalls anders als bei der GAF-Skala wird bei der SOFAS-Einschätzung jegliche Beeinträchtigung der sozialen und beruflichen Funktionen, die auf medizinische Krankheitsfaktoren zurückzuführen ist, in Betracht gezogen. Die Statistik zeigte starke negative Korrelationen zwischen der PLA₂-Aktivität und den funktionellen Parametern GAF und SOFAS zum Zeitpunkt W₀. Dieser Zusammenhang wurde bisher von keiner anderen Arbeitsgruppe untersucht und beschrieben und stellt somit einen Erstbefund dar.

5.1.3. PLA₂-Aktivität und antipsychotische Medikation W₀

Zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme waren 16 Patienten NL-naïv und 32 mediziert, wobei die Dauer der NL-Therapie weniger als eine Woche betrug. Die durchgeführte Subgruppenanalyse sollte Aufschlüsse über einen kurzzeitig einsetzenden Effekt atypischer Neuroleptika (Olanzapin, Risperidon) auf die PLA₂-Aktivität geben. Die Statistik zeigte keinen signifikanten Gruppenunterschied.

Aus der Literaturrecherche deuten einige tierexperimentelle in-vitro- und in-vivo-Studien auf einen inhibitorischen Einfluss mancher typischer Neuroleptika (Chlorpromazin, Trifluoperazin und Sulpirid) auf die PLA₂-Aktivität hin (Trzeciak et al. 1995, Ross et al. 1999). Andere typische Neuroleptika (Fluphenazin und Thioridazin) hingegen können die Aktivität der PLA₂ erhöhen (Trzeciak et al. 1995). In zwei unterschiedlichen Patientenpopulationen konnte die Arbeitsgruppe um Gattaz eine Normalisierung der PLA₂-Aktivität bereits nach einwöchiger Behandlung mit Haloperidol zeigen (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990).

Da sich die typischen Neuroleptika sowohl strukturellchemisch als auch pharmakologisch von den in dieser Studie angewendeten atypischen Neuroleptika unterscheiden, sind die beschriebenen Studienergebnisse nicht ohne weiteres auf diese Arbeit übertragbar.

Der Effekt atypischer Neuroleptika auf Phospholipidabbauprozesse ist bisher noch unzureichend untersucht. Vom Clozapin ist bekannt, daß es einen hemmenden Einfluß auf die

PLA₂ hat und somit zu einem Anstieg von membranösen mehrfach ungesättigten Fettsäuren bei schizophrenen Patienten führt (Tavares et al. 2003). Neben der PLA₂-inhibierenden Wirkung des Clozapin konnte kürzlich an einer Gruppe von 22 schizophrenen Patienten gezeigt werden, daß auch andere atypische Neuroleptika, wie Olanzapin, Amisulprid und Risperidon (nach 8wöchiger Behandlung) in der Lage sind, die Aktivität der PLA₂ zu reduzieren (Tavares et al. 2003).

Der Negativbefund der vorliegenden Studie könnte entweder darauf hindeuten, daß sich ein Medikamenteneffekt erst nach einem länger dauernden Behandlungsintervall (≥ 6 Tage), d.h. nach Etablierung eines ausreichend hohen Medikamentenspiegels über einen ausreichend langen Zeitraum einstellt, oder, daß eben kein unmittelbarer Einfluß der hier verwendeten Atypika auf die Enzymaktivität besteht.

5.1.4. PLA₂-Aktivität im Langzeit Verlauf

Nach 12wöchiger Behandlung mit Atypika konnte kein signifikanter Gruppenunterschied zwischen den behandelten Patienten und den gesunden Kontrollen mehr nachgewiesen werden. Dennoch gab es bei den Patienten große interindividuelle Unterschiede bezüglich der PLA₂-Veränderungen (7 Patienten zeigten eine verminderte, 11 Patienten eine erhöhte Aktivität), so daß sich innerhalb der Patientengruppe keine signifikante Niveauveränderung zwischen den beiden Meßgelegenheiten feststellen ließ.

Die Untersuchung des PLA₂-Niveaus nach 12wöchiger NL-Therapie sollte sich langsam entwickelnde Neuroleptikaeffekte auf lipid-metabolische Prozesse zur Darstellung bringen. Die Hypothese, daß eine atypische neuroleptische Medikation eine direkte Assoziation zur Aktivität der PLA₂ besitzt, kann anhand der Ergebnisse dieser Studie nicht gestärkt werden. Aber selbst bei einem deutlichen Positivbefund bezüglich des Langzeitverlaufs würden sich hierbei der potentielle Medikamenteneffekt (Inhibition der PLA₂, Tavares et al. 2003) und der Krankheitseffekt (Normalisierung einer im Initialstadium der Akutmanifestation erhöhten PLA₂-Aktivität, Smesny et al. 2005) überlappen. Der Medikamenteneffekt ist somit a priori schwer darstellbar. Es ist also vorstellbar, daß sich PLA₂-Abweichungen bei unterschiedlichen Patienten im Krankheitsverlauf verändern und daß atypische Neuroleptika in Abhängigkeit von Dosis und Therapieintervall in unterschiedlichem Maße Einfluß auf die Enzymaktivität nehmen. Das würde zumindest die deutlichen interindividuellen Schwankungen zum Zeitpunkt W₁₂ erklären. Erschwerend kommt hinzu, daß die untersuchte Stichprobe verschiedene atypische Neuroleptika erhalten hat, die sich in ihrer PLA₂-Wirksamkeit möglicherweise unterscheiden. Statistisch ergab sich hierfür jedoch kein Anhalt.

Denkbar ist auch, daß nur eine bestimmte Patientensubgruppe, welche sich anhand der erhobenen Basisdaten nicht näher charakterisieren ließ oder zu kleine Subgruppen ergab, unter NL-Therapie eine „Normalisierung“ der Enzymaktivität zeigt (z.B. vornehmlich negativsymptomatische Patienten). Hieraus leitet sich nun die Frage ab, ob Medikation und PLA₂-Veränderung mit dem klinischen Outcome assoziiert sind.

5.1.5. PLA₂-Aktivität und Psychopathologie W₁₂

Klare korrelative Zusammenhänge ergaben sich zwischen der PLA₂-Aktivität bei Studienbeginn und der Besserung psychopathologischer Symptome nach 12 Wochen. Patienten mit einer initial hohen PLA₂-Aktivität zeigten deutlich stärkere Verbesserungen negativsymptomatischer Scores (negative Subskala 1 und 2 der BPRS, negative Subskala der PANSS, Gesamt- und Subskalen 1 und 4 der SANS) als Patienten mit initial niedrigen PLA₂-Aktivitäten. Da bei den Patienten, welche sich in der Negativsymptomatik stark verbessern konnten, zwangsläufig auch initial eine hohe Negativsymptomatik vorhanden sein mußte, erklären sich auch die schwächeren Korrelationen der Enzymaktivität zur Psychopathologie zum Zeitpunkt W₀.

Die einzige signifikante Korrelation der Enzymaktivität zur Verbesserung positivsymptomatischer Scores zeigte sich bei der positiven Subskala der PANSS. Interessanterweise waren hierbei, wie bei allen anderen nicht signifikanten Korrelationen auch, initial hohe Enzymkonzentrationen mit einer weniger starken Verbesserung der Positivsymptomatik verbunden.

Assoziationen zwischen PLA₂-Aktivität und Therapieresponse sind bisher nicht in der Literatur beschrieben und stellen das erste Ergebnis dieser Art dar.

5.1.6. PLA₂-Aktivität und weitere epidemiologische Parameter

Neben der Psychopathologie und funktionellen Parametern wurden weitere Variablen erhoben, welche in möglichem Zusammenhang mit einer erhöhten Enzymaktivität stehen. Dazu zählten sowohl Basisvariablen, wie Alter und Geschlecht der Patienten, als auch die Familiengeschichte bezüglich Geisteskrankheiten und die Dauer der unbehandelten Psychose. Für diese Variablen zeigte die Statistik lediglich einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Geschlecht der Patienten und der PLA₂-Aktivität, wobei männliche Patienten eine signifikant höhere Enzymaktivität als weibliche Patienten zeigten.

In der Literatur zeigten sich weder in den Arbeiten von Ross et al. (1997, 1999) noch bei den Untersuchungen von Gattaz et al. (1995) Korrelationen zwischen der PLA₂-Aktivität und der

Dauer der schizophrenen Erkrankung bzw. der Anzahl früherer stationärer Behandlungen. Ersterkrankte Patienten zeigten in den jeweiligen Populationen allerdings die höchste PLA₂-Aktivität (Gattaz et al. 1990).

Einheitlicher Befund aller in Tabelle 3 aufgeführten Studien ist, daß Alter und Geschlecht keinen Einfluss auf die PLA₂-Aktivität haben. Andererseits bestehen geschlechtsspezifische Unterschiede bezüglich Ersterkrankungszeitpunkt, Verlauf, Hospitalisierungsdauer und Ansprechen auf Neuroleptika, wobei jeweils die weiblichen Patienten im Vorteil sind (Nasrallah und Smeltzer 2003). Als mögliche Ursache dieser geschlechtsspezifischen Unterschiede wird ein protektiver Einfluss weiblicher Geschlechtshormone diskutiert (Seeman und Lang 1990, Häfner et al. 1998). Der protektive Einfluß von Östrogenen könnte bei den weiblichen Patienten auch die niedrigeren PLA₂-Werte erklären.

5.2. Physiologie und Pathophysiologie der PLA₂

Zur besseren Einbindung unserer Befunde in bestehende pathophysiologische Konzepte der Schizophrenie soll sich das folgende Kapitel noch einmal mit den physiologischen Funktionen der hier untersuchten PLA₂ beschäftigen.

5.2.1. Bedeutung der PLA₂ für die Membranfluidität

Die wohl wichtigste Aufgabe der Phospholipase A₂ ist unter physiologischen Bedingungen der Erhalt der Membranfluidität. Dieses wird durch die Spaltung von Phospholipiden und Umbauprozesse der Membranen realisiert (remodeling). Die PLA₂ ermöglicht die Kontrolle über die Balance zwischen freien und veresterten PUFAs bzw. zwischen ungesättigten und gesättigten Fettsäuren des Phospholipidbilayer. Die Aufrechterhaltung des Fettsäureprofils ist einer der wichtigsten Mechanismen für den Erhalt der neuronalen Membranintegrität und -fluidität (Farooqui et al. 2004). Für den Umbau und die Instandhaltung der Phospholipide der Membranen spielen insbesondere die kalziumunabhängigen PLA₂-Enzyme eine wichtige Rolle, welche auch als „housekeeping enzymes“ bezeichnet werden (Akiba und Sato 2004). Als Hinweis auf die Bedeutsamkeit dieser PLA₂ für zentralnervöse Prozesse entfielen über 70% der PLA₂-Aktivität in Gehirnen von Ratten auf die kalziumunabhängige PLA₂ (Yang et al. 1999).

5.2.2. Bedeutung der PLA₂ für die Neurotransmission

Durch tierexperimentelle Untersuchungen ergab sich auch ein Zusammenhang zwischen PLA₂-Aktivität und dopaminergen Prozessen. So konnte nach unilateralen PLA₂-Injektionen in die Substantia nigra von Ratten ein Anstieg dopaminabhängiger Effekte, wie sie auch bei schizophrenen Erkrankungen vorkommen, gezeigt werden (Gattaz und Brunner 1996). Gattaz et al. nahmen an, daß eine dysfunktionale Interaktion zwischen intrazellulären und extrazellulären PLA₂-Subtypen zu einer gestörten Regulation der intraneuronalen PLA₂-Funktion führt, die wiederum Einfluß auf dopaminerge Neurone nimmt (Gattaz et al. 1990). Heute ist bekannt, daß die Phospholipase A₂ über G-Proteine u.a. an Muscarin-, Dopamin-, NMDA- und AMPA-Rezeptoren gekoppelt ist. Das Vorhandensein und die Funktionsfähigkeit von PLA₂-Enzymen sind von großer Wichtigkeit für die G-Protein-gebundene Neurotransmission. In Abbildung 17 ist das Zusammenspiel eines Rezeptors mit verschiedenen PLA₂-Subtypen (u.a. auch der hier untersuchten PLA₂G4A) dargestellt. Ähnlich wie von Gattaz bereits vor 18 Jahren vermutet, wird hier deutlich, daß nicht einzelne PLA₂, sondern erst das Zusammenwirken verschiedener PLA₂-Enzyme ihre optimale Funktion ermöglichen. Monoaminerge Rezeptoren, PLA₂G4A, PLA₂G2A und Enzyme der Eicosanoid-Synthese sind zudem genetisch kolokalisiert, woraus einmal mehr die Bedeutsamkeit von Enzymen der PLA₂-Gruppe für die monoaminerge Neurotransmission deutlich wird.

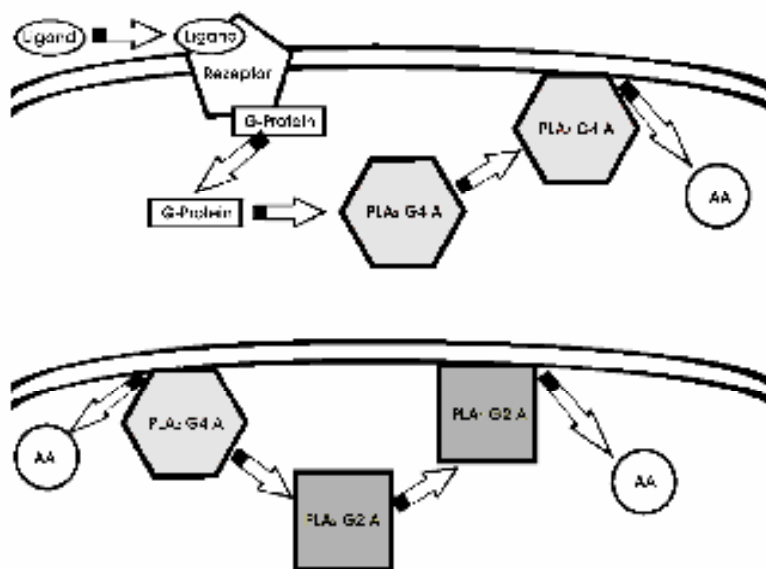


Abbildung 17: Das Zusammenwirken verschiedener PLA₂ (Law et al. 2006).

Oben: Initiierung der AA-Freisetzung durch die PLA₂ G4A.

Unten: Verstärkung der (einmal initiierten) AA-Freisetzung durch die PLA₂ G2A

5.2.3. Bedeutung der PLA₂ bei Apoptosevorgängen

Im Verlauf der Apoptose kommt es zu einem umfassenden Verlust der asymmetrischen Verteilung von Glycerophospholipiden in Plasmamembranen. Insbesondere werden die unter physiologischen Bedingungen vor allem im inneren Blatt der Membran gelegenen Phospholipide Phosphatidylethanolamin und -serin in das äußere Blatt verlagert. Dort dienen sie unter anderem als Erkennungsmerkmal der sterbenden Zelle für Phagozyten (Emoto et al. 1997, Williamson und Schlegel 2002). Hinzu kommt, daß die Phospholipide des äußeren Blattes der Zellmembran physiologischerweise mehr gesättigte Fettsäuren enthalten, was mit einer festeren Dichtung der Membran einhergeht, während die Phospholipide des inneren Blattes reicher an ungesättigten Fettsäuren sind, resultierend in einer lockereren Dichtung. Die Unterbrechung der Phospholipidasymmetrie während der Apoptose führt zu einer Störung der festen Abdichtung im äußeren Blatt. Diese Veränderung geht mit einem Kalziumeinstrom einher, welcher durch die Aktivierung von Caspasen und Phospholipase A₂ neuronale Degenerationsprozesse in Gang bringt und aufrechterhält. Dabei kommt es in Abhängigkeit von der Stärke und Dauer des Kalziumeinstroms zunächst zu apoptotischen Vorgängen, ab einem bestimmten Grad der Kalziumüberladung zur Nekrose (Farooqui et al. 2004).

Ein überschießendes Angebot freier mehrfach ungesättigter Fettsäuren ist ebenfalls in der Lage rückwirkend Apoptosevorgänge zu induzieren. Normalerweise werden Arachidonsäure und Lysophospholipide in der Zelle durch energieabhängige Reaktionen recycelt, so daß der normale Phospholipidgehalt der neuronalen Membran erhalten bleibt und intrazelluläre Konzentrationen an freier Arachidonsäure und Lysophospholipiden auf niedrigem Niveau gehalten werden. Bei unkontrollierter Freisetzung von AA bzw. durch ATP-Mangel eingeschränkten Membranreparaturprozessen kann es allerdings zu einem starken Anstieg dieser Produkte kommen, die für die Störung der Membranintegrität und pathologische zelluläre Funktionen verantwortlich gemacht werden (Piomelli 1993). So führen erhöhte Konzentrationen an AA neben der gesteigerten Synthese und Akkumulation von Eicosanoiden, zur Entstehung von 4-Hydroxy-2-nonenal (4-HNE), einem peroxidierten Produkt der AA, was zu oxidativem Stress führt (Camandola et al. 2000).

5.2.4. Bedeutung der PLA₂ bei oxidativem Stress

Neuronale Membranen sind besonders empfindlich gegenüber oxidativem Stress. Dies liegt sowohl an dem hohen metabolischen Umsatz und dem damit verbundenen hohen Bedarf an Sauerstoff, als auch an dem geringen Pegel an Antioxidantien bzw. dem großen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Dadurch sind neuronale Membranen besonders anfällig

für die Abspaltung eines Wasserstoffs an der zwischen zwei Doppelbindungen gelegenen CH_2 -Gruppe. Als Folge entstehen, leichter als in anderen Geweben, hochreaktive Radikale (Farooqui et al. 2004).

Hinzu kommt die Reichhaltigkeit des Gehirns an Eisen, verbunden mit keiner oder nur sehr geringer Eisenbindungskapazität des umgebenden Liquors. In Anwesenheit von Eisen können instabile peroxidierte Lipide weiter zu Radikalen zerfallen, was eine Kettenreaktion auslösen kann. Freie Radikale entstehen außerdem in geringen Mengen während der normalen zellulären Stoffwechselprozesse.

Die PLA_2 übernimmt durch die Hydrolyse der peroxidierten Glycerophospholipide eine Schutzfunktion für die Membranen. Dieser Vorgang wird dadurch unterstützt, daß die sn-2 Bindung der Phospholipide dem Zugriff durch die PLA_2 bei defekter Membrandichtung leichter zugänglich ist. Die PLA_2 entfernt damit die peroxidierten, membrandestabilisierenden Fettsäuren und schafft so die Möglichkeit, die von den geschädigten Fettsäuren befreiten Lysophospholipide zu reacylieren und in die Membran zu integrieren. Auf diese Weise können durch die Aktion der Phospholipase die physiologischen, physikochemischen Merkmale der neuronalen Membran wiederhergestellt werden (McLean et al. 1993, Salgo et al. 1993, Farooqui et al. 2000).

5.3. Integrierende Betrachtung der Ergebnisse

Insgesamt stützen sowohl die beschriebene Erhöhung der PLA_2 -Aktivität als auch ^{31}P -MRS-Ergebnisse (verminderte Konzentration von Phospholipidvorstufen und veränderte Konzentrationen von Phospholipidabbauprodukten in verschiedenen Hirnregionen, siehe Kapitel 2.2.) die Annahme einer Phospholipidumsatzstörung. Auf neuronaler Ebene führt ein gesteigerter Umsatz membranöser Phospholipide zu Veränderungen des Membranaufbaus bzw. einer Reduktion der gesamten Membranoberfläche. Solche Veränderungen haben erheblichen Einfluß auf neuronale Funktionen bzw. die neuronale Lebensdauer ansich (Gattaz et al. 1990). Erhöhte PLA_2 -Aktivität ist u.a. mit ausgeprägten Veränderungen der Oberflächenspannung synaptosomaler Membranen assoziiert, was mit einer Verminderung der Membran-Mikroviskosität einhergeht. Membranassoziierte Rezeptoren reagieren sehr sensibel auf diese physikochemischen Veränderungen der synaptosomalen Membranumgebung (Gattaz et al. 1990). PLA_2 -abhängige Veränderungen vesikulärer Membranen haben außerdem direkten Einfluß auf die zerebrale Neurotransmittersynthese und -freisetzung. In dopaminergen Neuronen verändert eine erhöhte PLA_2 -Aktivität sowohl die Sensitivität von Dopaminrezeptoren als auch die Dopaminsynthese und -freisetzung (Gattaz et

al. 1994). Es entsteht also der Eindruck, als seien PLA₂-Veränderungen ein sensibler Marker für gesteigerte zelluläre Ab- und Umbauprozesse, die wiederum eng mit Transmittergenerierung und -freisetzung sowie Rezeptoreinbettung und -funktion gekoppelt sind.

Die Ergebnisse dieser Studie legen weiterhin einen Zusammenhang zwischen derartigen pathophysiologischen Abläufen und negativsymptomatischer Phänomenologie der Erkrankung bzw. funktionellen Einschränkungen nahe. Außerdem zeichnen sich Assoziationen zur Therapieresponse von Negativsymptomen auf Atypika ab. Da hierbei initial hohe Enzymaktivitäten mit einer starken Verbesserung der Negativsymptomatik nach 12 Wochen assoziiert waren, liegt es nahe, daß die gesteigerte PLA₂-Aktivität am ehesten Ausdruck eines regenerativen bzw. potentiell neuroprotektiven Prozesses ist. Wie in Kapitel 5.2. dargestellt, spielen PLA₂-Enzyme insbesondere beim Abbau oxidativ geschädigter Membranphospholipide und der Aufrechterhaltung der Zellmembranintegrität eine entscheidende Rolle. Eine hohe Enzymkonzentration könnte daher Ausdruck eines gesteigerten „housekeeping“-Erfordernisses, d.h. gesteigerter Instandhaltungsmechanismen sein, die, um die Wirksamkeit der Neuroleptika ergänzt, im Verlauf von 12 Wochen zu einer deutlichen Verbesserung von Negativ-Symptomen führen.

Da sich bei der Subgruppenanalyse nicht-negativsymptomatischer Patienten keine korrelativen Zusammenhänge zwischen der Enzymaktivität und psychopathologischen Testvariablen mehr zeigten, scheint die PLA₂ nicht mit der gesamten Psychopathologie sondern vielmehr mit einzelnen Symptomdimensionen (insbesondere mit der Negativsymptomatik) assoziiert zu sein.

Sowohl Kraepelin als auch Bleuler bezeichneten negative Symptome als zentrale Symptome der Schizophrenie. Positive und negative Symptome sind in den meisten Querschnittsstudien an Populationen Schizophrener statistisch unabhängig (Bilder et al. 1985). Klinisch unterscheiden sich die Patienten mit Negativsymptomatik von der Positivgruppe durch ein schlechteres soziales Funktionsniveau, eine schlechtere prämorbidie Anpassungsfähigkeit, häufiger auftretende kognitive Störungen und anatomische Auffälligkeiten, was nahelegt, daß positive und negative Symptomdimensionen auch mit unterschiedlichen pathophysiologischen Mechanismen einhergehen (Pogue-Geile und Zubin 1988).

Hieraus ergeben sich hinsichtlich der Klassifikation schizophrener Störungen weitreichende Implikationen, da gesteigerte PLA₂-Aktivität mit den von Kraepelin und Bleuler postulierten Kernsymptomen assoziiert zu sein scheint. Denkbar wäre eine Markerfunktion der PLA₂-Abweichung für die im Kraepelin'schen Sinne Erkrankten. Denkbar ist aber auch eine

prädiktive Bedeutung gesteigerter PLA₂-Aktivität für das Ansprechen eben dieser (negativen) Kernsymptome auf bestimmte Atypika.

5.4. Erklärungsmodelle gesteigerter PLA₂-Aktivität bei Schizophrenie

Wie bereits in Kapitel 5.3. angedeutet, legen die vorliegenden Ergebnisse eine unter gesteigerter PLA₂-Aktivität ablaufende Reaktion, auf einen noch näher zu spezifizierenden neurotoxischen Einfluß nahe, der zu einer Vulnerabilität des Dopamin- (und sicher auch des glutamatergen) Systems führt. Favorisiert wird also die Annahme eines Primärprozesses, der PLA₂-assoziierte (regenerative) Kompensationsprozesse auslöst. Diese Annahme weicht von traditionellen Interpretationslinien ab, die nachfolgend diskutiert werden sollen.

Initial wurde von einer primären Dysfunktion der PLA₂ ausgegangen, die in der Folge zur Zerstörung neuronaler Membranen führt. Viele Arbeitsgruppen untersuchten Veränderungen in der Nähe bestimmter PLA₂-Genabschnitte bei schizophrenen Patienten. Eine Übersicht gibt Tabelle 11. Veränderungen an PLA₂-Genorten könnten durch eine größere Anzahl von Enzymkopien die Aktivitätssteigerung bedingen. Die Ergebnisse hierzu sind allerdings mehr als uneinheitlich und letztlich wenig suggestiv bezogen auf die Ausgangshypothese. Eine veränderte PLA₂-Aktivität bei familiär vorbelasteten gesunden Personen bzw. bereits erkrankten Patienten wurde bisher ebenfalls von keinem Autor beschrieben.

Ein weiterer, indirekter Hinweis darauf, daß die PLA₂-Fehlfunktion nicht Ergebnis eines primär genetischen Defektes eines PLA₂-Gens ist, sondern eher ein sekundäres Phänomen darstellt, ergibt sich aus einer in-vitro-Untersuchung von Bennett et al. (1991). Er verglich die PLA₂-Aktivität in mit EBV-Virus transformierten Lymphoblasten von Schizophrenen und Gesunden. Daß kein Unterschied zwischen Patienten und Gesunden gemessen werden konnte, wurde dahingehend interpretiert, daß das PLA₂-Enzym an sich nicht genetisch verändert vorliegt, sondern es sich um eine veränderte Regulation durch endogene PLA₂ inhibierende Proteine (PLIPs) handeln müsse.

Tabelle 11: Übersicht über die genetischen Studien zur PLA₂ an Schizophrenen

Studie	Anzahl Schizophrene	Anzahl Kontrollen	Land / Ethnische Herkunft	Untersuchter Genlokus	Verbindung bestimmter PLA ₂ Gene zur Schizophrenie
Hudson et al. 1996a	65	65	Kanada / kaukasisch USA / kaukasisch	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region	+
Hudson et al. 1996b	44	88	Kanada / kaukasisch Italien / kaukasisch	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region	+
Hudson et al. 1996b	20	20	Kanada / kaukasisch USA / kaukasisch	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region Niacin-Test	+
Price et al. 1997	58	56	Schottland / kaukasisch	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region	-
Doris et al. 1998	35	40	- / -	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region	-
Wei et al. 1998	193	101	- / kaukasisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Wei et al. 1998	50	100	- / kaukasisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	+
Peet et al. 1998	36	27	Indien / indisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	+
Ramchand et al. 1999	52	48	Indien / indisch	Cytosin/Adenin Mikrosatellit im PLA ₂ G4A Promotor	-
Chowdari et al. 2001	86	130	USA / kaukasisch USA / afrikanisch	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Chowdari et al. 2001	86	94	USA / kaukasisch USA / afrikanisch	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Chowdari et al. 2001	159	283	Indien / indisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Frieboes et al. 2001	328	426	Europa / kaukasisch China / chinesisches Taiwan / asiatisches	Poly(A) Adeninrepeat in PLA ₂ G4A Promotor Region	-
Junqueira et al. 2004	240	312	Brasilien / brasilianisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Junqueira et al. 2004	240	312	Brasilien / brasilianisch	Avr II (rs4375 im vierten Intron der PLA ₂ G6A)	+
Wei und Hemmings 2004	118	236	England / kaukasisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	+
Yu et al. 2004	186	336	China / chinesisches	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Pae et al. 2004	97	117	Korea / koreanisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	+
Tao et al. 2005	240	480	China / chinesisches	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	-
Wei und Hemmings 2005	132	262	England / kaukasisch	Ban I (rs10798059 im ersten Intron der PLA ₂ G4A)	+

Hingegen leiten sich neue Argumente für das Verständnis der gesteigerten PLA₂-Aktivität als sekundäres Phänomen aus den beschriebenen physiologischen Hauptfunktionen der PLA₂ ab, insbesondere der Einbeziehung in antioxidative Schutz- und Regenerierungsmechanismen.

In jedem Organismus existiert ein hochentwickeltes Antioxidationssystem, was vor Schäden durch Oxidationsvorgänge schützen soll. Dieses System könnte in der ersten akuten Phase der schizophrenen Psychose überlastet sein. So wurde bei unmedizierten ersterkrankten Schizophrenen eine verminderte Aktivität der Superoxid-Dismutase (Mukerjee et al. 1996) und begleitend ein Anstieg der Lipidperoxide im Plasma gefunden (Mahadik und Evans 2003). Reddy et al. (2003) berichteten von signifikant niedrigeren Antioxidantien-Spiegeln im Plasma NL-naïver ersterkrankter Schizophrener verglichen mit Patienten mit affektiven Störungen und gesunden Kontrollen.

Insgesamt existieren aus klinischen und in-vitro-Untersuchungen vielerlei Hinweise, daß eine gesteigerte PLA₂-Aktivität bei schizophrener Erstmanifestation ein sekundäres Phänomen zu oxidativer Membranschädigung darstellen könnte (Sapirstein et al. 1996, Taketo und Sonoshita 2002). Als Grund für eine erhöhte oxidative Belastung kämen eine primär gestörte antioxidative Abwehr (Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase, Katalase), wahrscheinlicher aber cytotoxische Effekte einer gestörten glutamatergen Rückkopplung bzw. phasischer hyperdopaminergen Aktivität in Frage. In dem Zusammenhang mehrten sich Anhaltspunkte für einen selbstzerstörenden neurotoxischen Aspekt der Psychose selbst (Cahn et al. 2006, Carlsson 2006).

5.5. Methodenkritik

5.5.1. Spezifität der verwendeten Methode für die Ziel-PLA₂

Die wesentlichen methodischen Probleme bei enzymkinetischen Untersuchungen biologischer Proben sollen im Folgenden angesprochen werden. Im Blutserum befindet sich naturgemäß ein Gemisch verschiedener PLA₂-Subtypen: die sekretorischen sPLA₂, die cytosolischen cPLA₂ und die ebenfalls cytosolischen kalziumunabhängigen iPLA₂. Sowohl die cPLA₂ als auch die iPLA₂ werden aus zerstörten Zellen freigesetzt und weisen nach aktueller Datenlage am ehesten Veränderungen bei schizophrenen Psychosen auf (Ross et al. 1997, Lasch et al. 2003). Während Arbeitsgruppen, welche ein fluorometrisches Assay verwendeten, eben diese kalziumunabhängigen PLA₂ nachwiesen (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990, Katila et al. 1997, Lasch et al. 2003, Tavares et al. 2003, Smesny et al. 2005, die vorliegende Arbeit), wurde bei Arbeitsgruppen, welche ein radiometrisches Assay verwendeten, die Aktivität kalziumabhängiger PLA₂-Enzyme bestimmt (Albers et al. 1993, Noponen et al. 1993, Gattaz

et al. 1995, Hudson et al. 1999). Es ist deshalb anzunehmen, daß die abweichenden Ergebnisse dieser Arbeitsgruppen darauf zurückzuführen sind, daß die Aktivität kalziumabhängiger PLA₂ bei schizophrenen Psychosen nicht verändert ist.

Weiterhin wird die Vergleichbarkeit der Ergebnisse durch das verwendete Untersuchungsmaterial und damit verbundene Unterschiede im zu erwartenden Enzymgemisch erschwert. Insgesamt wurden bisher Thromozyten (Gattaz et al. 1995), Erythrozyten (Macdonald et al. 2004), post mortem Hirngewebe (Ross et al. 1999), EDTA- bzw. Heparinplasma (Gattaz et al. 1990, Katila et al. 1997) und Serum (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990, Albers et al. 1993, Noponen et al. 1993, Ross et al. 1997, Hudson et al. 1999, Lasch et al. 2003, Tavares et al. 2003, Smesny et al. 2005, diese Arbeit) untersucht.

Hieraus wird deutlich, daß die Auffindung und Charakterisierung des beschriebenen Gruppeneffektes (Patient vs. Kontrolle) maßgeblich bestimmter Meßvoraussetzungen bedarf, so daß der Anteil der Target-PLA₂ möglichst hoch ist. Trotz zahlreicher Vorarbeiten, die für diese Arbeit geleistet wurden, ist das verwendete Substrat weder spezifisch für die molekulargenetisch determinierte cPLA₂G4 oder G2, noch für die iPLA₂G6, weist aber Enzyme mit geringstem bzw. keinem Kalziumbedarf nach, die die genannten höchstwahrscheinlich einschließen. Zur weiteren Klärung erscheint somit die Entwicklung isoenzymspezifischer PLA₂-Nachweismethoden sinnvoll. So konnte z.B. in einer Studie von Macdonald et al. (2004) mittels ELISA eine erhöhte Konzentration (nicht Aktivität) der PLA₂G4A bei schizophrenen Patienten nachgewiesen werden, was die zuvor geäußerte Annahme stärkt.

Mit der von Macdonald et al. entwickelten Methode kann direkt die Enzymkonzentration gemessen werden. Abweichend hiervon wurde in der vorliegenden Arbeit über die Abspaltung der fluorogenen Gruppe NBD-X auf die Aktivität der PLA₂ geschlossen. Vorteil der hier verwendeten Herangehensweise ist, daß der aktive Anteil des Enzyms, d.h. der tatsächlich stoffwechselwirksame Enzymgehalt beschrieben wird, der nicht zwingend mit der Enzymproteinkonzentration korrelieren muß.

5.5.2. Stichprobenbedingte Limitationen

In einigen Veröffentlichungen wurde neben der PLA₂-Aktivität von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen auch die PLA₂-Aktivität von nicht schizophrenen psychiatrischen Kontrollen bestimmt (Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990, Albers et al. 1993, Noponen et al. 1993, Katila et al. 1997). Die Arbeitsgruppe von Gattaz zeigte in beiden Studien bei den Schizophrenen jeweils höhere Enzymaktivitäten als bei den anderen psychiatrischen Patienten

(Gattaz et al. 1987, Gattaz et al. 1990). Aus diesem Grund wurde von den Autoren die Erhöhung der PLA₂-Aktivität als spezifisch für Schizophrenie beschrieben. Diese Meinung fand Gegenstimmen, selbst bei Untersuchern, die auch eine PLA₂-Aktivitätssteigerung bei schizophrenen Patienten gefunden hatten. Noponen et al. (1993) deutet die von ihm beobachtete erhöhte (kalziumabhängige) PLA₂-Aktivität bei Schizophrenen, die sich nicht von der der anderen psychiatrischen Patienten unterschied, als unspezifischen Effekt im Rahmen einer Akute-Phase-Reaktion bei akuten seelischen Erkrankungen (Noponen et al. 1993). Diese Überlegung ist bis heute nicht zurückgewiesen. Allerdings bedarf die „Akute-Phase-Reaktion“ näherer Spezifizierung. Abgesehen von der Begrifflichkeit ergibt sich inhaltlich eine gewisse Nähe zu der in der vorliegenden Arbeit favorisierten Reaktion auf einen zum Akutmanifestationszeitpunkt ablaufenden neurodestruktiven Prozess.

Um eindeutig zu zeigen, daß die berichteten Assoziationen der Enzymaktivität spezifisch für Schizophrenie sind, wären auch hier psychiatrische Kontrollen wünschenswert gewesen, die aber für die vorliegende Arbeit nicht zur Verfügung standen.

Auffällig ist allerdings die Assoziation der PLA₂-Erhöhung zum Negativ-Syndrom. Möglicherweise ist die PLA₂ aktivierende Pathophysiologie „spezifisch“ für psychiatrische Krankheitsverläufe, die der Kraepelin'schen Beschreibung schizophrener Störungen entsprechen.

Limitierend wirkt sich weiterhin aus, daß $\frac{2}{3}$ der Patienten zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme bereits kurzzeitig mediziert waren. Auch wenn der Gruppenvergleich (NL-naïve vs. medizierte Patienten) kein signifikantes Ergebnis zeigte, ist zumindest in einer Studie ein Effekt atypischer Neuroleptika nach 8wöchiger Gabe auf die PLA₂-Aktivität beschrieben (Tavares et al. 2003). Es zeigte sich, daß diese Substanzen zumindest längerfristig in der Lage sein können, die initial erhöhte PLA₂-Aktivität zu reduzieren. Studien mit ausschließlich NL-naïven Patienten wären prinzipiell geeigneter, um Aussagen über Assoziationen der PLA₂ zur krankheitsspezifischen Pathophysiologie -ohne den Einfluß eines potentiellen Medikamenteneffekts- zu treffen. Allerdings ergibt sich auch immer die Diskrepanz zwischen Rekrutierungszeitraum und Lagerungszeit der Proben, was wie im vorliegenden Fall zu Kompromissen zwingt.

6. RESÜMEE

Die erste Arbeitshypothese, daß sich die PLA₂-Aktivität bei schizophrenen Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhöht darstellt, konnte bestätigt werden und stellt einen Replikationsbefund dar, der Grundlage weiterer Untersuchungsschritte war. Bisher ist nicht sicher zu sagen, wie die Erhöhung bestimmter PLA₂-Aktivitäten als biochemisches Charakteristikum der Schizophrenie ätiologisch einzuordnen ist. Zum einen wäre eine PLA₂-Funktionsstörung als primär schädigendes Phänomen (z.B. mit der Folge eines gesteigerten Membranabbaus) denkbar. Dieser Argumentation wurde hier nicht gefolgt. Zum anderen könnte sich eine Aktivitätssteigerung aus einem physiologisch notwendigen Kompensationsprozeß im Sinne einer Reaktion auf andere, ätiologisch noch unklare, biochemische Abnormitäten (am ehesten verbunden mit gesteigertem oxidativen Stress) ergeben. Anhand von Membranlipidveränderungen, die bereits im Vorfeld der Psychose oder im Prodromalstadium bzw. bei genetischen Risikopersonen nachweisbar waren, wurde postuliert, daß derartige ursächliche Veränderungen bereits Teil der genetisch bedingten Vulnerabilität zur Ausprägung der Erkrankung sind (Horrobin 1998). Ausgehend von einem „Schwellenmodell“ ist ferner anzunehmen, daß pathophysiologisch relevante Stoffwechselveränderungen dann ihre deutlichste Ausprägung erreichen, wenn die umweltbedingten Anforderungen am stärksten einwirken. Dies ist unseren Ergebnissen zufolge zum Zeitpunkt der ersten Akutmanifestation der Fall und steht im Einklang mit aktuellen Gen-Umwelt-Konzepten (van Os et al. 2004).

Die Hypothese, daß weitere korrelative Zusammenhänge zwischen der PLA₂-Aktivität und epidemiologischen Parametern wie Alter, Geschlecht, Vormedikation, Familienanamnese oder der Dauer der unbehandelten Psychose bestehen, konnte teilweise bestätigt werden. Männliche Patienten zeigten signifikant höhere Enzymkonzentrationen als weibliche Patienten. Bei diesen könnte der protektive Einfluß der Östrogene die niedrigeren PLA₂-Werte erklären. Oder anders gesagt: der PLA₂-assoziierte regenerative Prozess läuft bei hormonell weniger „geschützten“ Männern stärker ab, was letztlich auch den oft höheren Medikamentenbedarf erklärt.

Die Annahme, daß die Einnahme einer atypischen neuroleptischen Medikation eine Senkung der PLA₂-Aktivität zur Folge hat, konnte nicht zweifelsfrei bestätigt werden. Limitierend wirkte sich aus, daß die untersuchte Stichprobe verschiedene atypische Neuroleptika erhalten hat und daß sich die chemisch verschiedenen Stoffe bezüglich der Wirkung auf die PLA₂ unterscheiden. Auf diesem Gebiet sind gezieltere Untersuchungen mit einem angepassten Studiendesign (mehrzeitige Blutentnahmen, Gruppenbildung nach Medikamententyp) erforderlich. Möglicherweise besteht ein Medikamenteneffekt indirekt durch die Verminderung der Erkrankungsaktivität. Es ergäbe sich daraus neben der klinischen Einschätzung ein biologisch fundiertes Entscheidungskriterium bei der Behandlung schizophrener Patienten.

Die eingangs aufgestellte Hypothese, daß die gemessene PLA₂-Aktivität mit dem Ansprechen auf die Therapie mit atypischen Neuroleptika korreliert, kann bestätigt werden. Patienten mit höheren PLA₂-Werten zeigten ein deutlich besseres Therapieansprechen auf atypische Neuroleptika als Patienten mit geringeren PLA₂-Werten. Da zu den physiologischen Hauptfunktionen der untersuchten Enzymgruppe die Instandhaltung oxidativ geschädigter Membranen gehört und vorbestehende Evidenz für hohe oxidative Vulnerabilität des ZNS und kompromittierte antioxidative Abwehr bei Schizophrenie existiert, stellt sich die erhöhte Enzymaktivität als Ausdruck eines regenerativen Prozesses dar, mit dem Ziel, Schäden der Zellmembranen und entsprechenden pathophysiologischen Auswirkungen entgegenzuwirken. Weiterhin zeigte sich, daß die PLA₂-Aktivität nicht mit der Psychopathologie insgesamt, sondern insbesondere mit der Negativsymptomatik assoziiert ist, was eine Differenzierung der verschiedenen Symptomdimensionen (Positiv vs. Negativ) auf pathophysiologischer Ebene nahelegt. Im Verlauf der letzten Jahrzehnte hat das Positiv-Negativ-Konzept zu einer Vielzahl wissenschaftlicher Studien hinsichtlich Verlauf, Ausgang, familiärer Konstellation, Neurotransmitterhypothesen und Imaging-Befunden geführt und auch Eingang in die klinische Praxis gefunden. Insgesamt führten die Forschungen aber zu der Erkenntnis, daß die Positiv-Negativ-Typologie eine zu starke Vereinfachung darstellt und letztlich nicht zu validen Subtypen führt. Insbesondere zeigte sich, daß Positiv- und Negativsymptomatik im Längsschnitt keine unabhängigen Phänomene sind und vielmehr Übergänge ineinander vorkommen. Weiterhin ist bei der Querschnittsdiagnostik ein hoher Anteil an schizophrenen Zustandsbildern als Mischform zu klassifizieren. Häufig beginnen Schizophrenien mit einer Negativsymptomatik, auf die sich bei akuter Exazerbation eine Positivsymptomatik „aufpfropft“, um dann nach Behandlung der psychotischen Exazerbation wieder von

Negativsymptomen geprägt zu sein. Genetisch-epidemiologische Studien zeigen konsistent, daß die Falldefinition bei nichtschizophrenen Angehörigen oder Risikoprobanden mit negativen Symptommaßen zur besseren Übereinstimmung mit Hereditätsmodellen führt als jene mit unterschwelligen positiven Symptommaßen. Dies und die führende Bedeutung zu Beginn der Schizophrenie lassen vermuten, daß in der Negativsymptomatik, obwohl eine Spezifität für Schizophrenie noch nicht nachgewiesen werden konnte, ein Kernsymptom des Krankheitsprozesses enthalten ist. Dieses „Kernsymptom“ zeigt unseren Ergebnissen zufolge Assoziationen zum PLA₂-Befund und dieser wiederum zur Response des Syndroms auf atypische Neuroleptika.

6.1. Ausblick

Ausgehend von einem Zusammenhang zwischen einer Aktivitätssteigerung eines Enzyms der PLA₂-Gruppe und der Verarmung der Zellmembran an essentiellen Fettsäuren wurde in einer Reihe von Studien die Möglichkeit einer therapeutischen Beeinflussung über diätetische Veränderungen geprüft.

Mit Therapieansätzen, bei denen ergänzend zur neuroleptischen Medikation unterschiedliche essentielle Fettsäuren (Schlüsselblumenöl / Leinsamenöl) substituiert wurden, erreichten verschiedene Arbeitsgruppen signifikante Verbesserungen schizophrener Symptome (Fenton et al. 2000). Peet et al. (1996) erzielten durch eine 6wöchige Add-on-Gabe von konzentriertem Seefischöl (10 g/d) eine signifikante Symptomremission, wobei sich begleitend ein steigender Gehalt an Omega-3-Fettsäuren in den Erythrozyten der Patienten nachweisen ließ. Biochemisch gelang der Nachweis, daß eine Anreicherung der Nahrung mit essentiellen Fettsäuren neuronale Membranen direkt beeinflussen kann (Abedin et al. 1999).

In einer neueren Studie von Peet et al. kam es unter Supplementation einer stabilen NL-Gabe mit Eicosapentaensäure (EPA, eine Omega-3-Säure) zu einer signifikanten Verminderung von Positiv- als auch Negativsymptomatik (Peet et al. 2001). Puri und Richardson (1998) behandelten einen (bis auf eine einmalige Gabe von Sulpirid 200 mg) unmedizierten schizophrenen Patienten mit EPA (2 g/d), wobei es ebenfalls zu einer deutlichen, andauernden Verbesserung positiver und negativer Symptome sowie zur Rückbildung hirnmorphologischer Abweichungen kam. Dabei war der Patient frei von jeglicher neuroleptischen Medikation. Bei diesen Studien fiel die Wahl auf EPA nicht nur wegen der Eigenschaft als Vorläufer der Docosahexaensäure (DHA, ein Fettsäurebestandteil insbesondere neuronaler Membranen) sondern auch wegen der PLA₂-inhibierenden Wirkung. Gerade für die Subgruppe

schizophrener Patienten, die eine PLA₂-Erhöhung zeigt, wären die genannten alternativen Therapieansätze überlegenswert.

Auch die bei Schizophrenie offenbar bestehende Belastung durch oxidativen Stress bot Anlaß, über alternative Behandlungsstrategien nachzudenken (Mahadik und Scheffer 1996). Die Gabe antioxidativ wirksamer Substanzen (wie Vitamin E, C oder β -Karotin) zeigte bei einer Subpopulation schizophrener Patienten eine positive klinische Wirkung (Mahadik et al. 2001).

Eine weitere Möglichkeit, auf den gestörten Phospholipidstoffwechsel Einfluß zu nehmen, könnte die direkte Hemmung von PLA₂-Enzymen sein. Das Hauptproblem bei der Entwicklung effektiver PLA₂-Inhibitoren ist, daß Säugerzellen eine Vielzahl verschiedener Enzymisoformen enthalten, welche alle in den physiologischen Phospholipidstoffwechsel und die AA-Produktion involviert sind. Eine nicht-selektive PLA₂-Inhibition würde den essentiellen Phospholipidmetabolismus und die Lebensfähigkeit der Zelle entscheidend beeinflussen. Die zwingende Frage, wenn man die Inhibition der PLA₂ als ein therapeutisches Ziel einsetzen möchte, ist, ob überhaupt einzelne und wenn ja welche PLA₂-Isoformen in die pathophysiologischen Prozesse der Schizophrenie involviert sind (Yedgar et al. 2000).

6.1.1. Studienausblick

Nach der Betrachtung einer Vielzahl einzelner Stoffwechselparameter wird gerade bei neueren Arbeiten ein Trend zur kombinierten Untersuchung verschiedener Stationen des Lipidstoffwechsels von der genetischen Kodierung des Schlüsselenzyms bis hin zur Prostaglandinsynthese deutlich. Auch die mittels ³¹P-MRS im ZNS nachgewiesenen Abweichungen von Phospholipidkonzentrationen bei schizophrenen Patienten ließen sich unter Einbeziehung biochemischer Untersuchungen vor- bzw. nachgeschalteter Stoffwechselabschnitte im peripheren Blut oder in den entsprechenden Hirnarealen selbst besser verstehen und bewerten. Für das weitere Verständnis der Ätiopathogenese schizophrener Psychosen und die Optimierung therapeutischer Ansätze wäre es außerdem notwendig, mögliche systemische Störungen im Verlauf der Erkrankung, im Vergleich zu gesunden und psychiatrischen Kontrollen sowie im medizierten und unmedizierten Zustand zu erfassen.

Um den Bezug zum zerebralen Membranstoffwechsel stärker zu gewichten, wären Untersuchungen im Liquor wünschenswert. Allerdings sind hier ethische Probleme in Bezug auf die ausschließlich wissenschaftlichen Interessen dienende Lumbalpunktion bei schizophrenen Patienten zu erwarten.

Die Untersuchungen verschiedener Stoffwechselfparameter bei noch nicht erkrankten, familiär vorbelasteten Personen könnte Aufschluß über pathophysiologische Prozesse vor der ersten Krankheitsmanifestation geben und die Einbeziehung der Stoffwechselanomalie in das Vulnerabilitätskonzept stärken.

In der eigenen Arbeitsgruppe wird derzeit an Folgestudien auf dem Gebiet der PLA₂-Aktivität gearbeitet. Einen Schwerpunkt stellt dabei die Kombination mehrerer sich ergänzender Methoden dar. Beispielsweise wurden 24 unbehandelte Schizophrene (davon 13 Ersterkrankte und 11 Wiedererkrankte) und 25 gesunde Kontrollen sowohl mittels VBM (Voxel basierte Morphometrie, ein kernspintomographisches Verfahren) auf strukturelle Abweichungen verschiedener Hirnareale als auch auf PLA₂-Veränderungen hin untersucht. Bei den ersterkrankten Patienten zeigten sich Assoziationen von erhöhter PLA₂-Aktivität zu einer Verringerung grauer Substanz im linken Mediotemporallappen und einer Verringerung weißer Substanz im linken Frontallappen (Smesny et al. 2008).

Vom medialen Temporallappen, einem Teil des limbischen Kortex, sind während und bereits vor der ersten Akutmanifestation sowohl strukturelle (Falkai et al. 2002, Seidman et al. 2003) als auch metabolische Abweichungen (Jensen et al. 2006) beschrieben worden. Die gesteigerte PLA₂-Aktivität verbunden mit verringerter Dichte grauer Substanz wird als weiterer Hinweis auf regenerative Tendenzen in diesen Hirnregionen gedeutet. Bei wiederholt erkrankten Patienten zeigten sich Korrelationen zwischen PLA₂-Aktivität und strukturellen Veränderungen in einem eher multiregionalen Verteilungsmuster, vorwiegend in rechtshemisphärischen kortikalen und subkortikalen Regionen, was auf eine Erschöpfung von Reparatur- und Remodelingprozessen während des Fortschreitens der Erkrankung hindeutet. Zusammengenommen stärken diese Befunde die Annahme, daß die bekannten strukturellen Abweichungen (sowohl in weißer als auch in grauer Substanz) mit einem gestörten Phospholipidmetabolismus assoziiert sind, und daß im Beginn der Erkrankung das stärkste Potential besteht, hirndestruktiven Mechanismen entgegenzuwirken. Diese Erkenntnis unterstreicht die Zeit der ersten Akutmanifestation als hochvulnerable, hirnmetabolisch aktive Phase, die entscheidenden Einfluß auf den weiteren Krankheitsverlauf hat und (wie aus den vorliegenden Ergebnissen ersichtlich) wichtige therapeutische Einflußmöglichkeiten bietet.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- Abedin L, Lien EL, Vingrys AJ, Sinclair AJ. 1999. The effects of dietary alpha-linolenic acid compared with docosahexaenoic acid on brain, retina, liver, and heart in the guinea pig. *Lipids*, 34 (5):475-482.
- Ackermann EJ, Conde-Frieboes K, Dennis EA. 1995. Inhibition of macrophage Ca(2+)-independent phospholipase A₂ by bromoenol lactone and trifluoromethyl ketones. *J Biol Chem*, 270 (1):445-450.
- Akiba S, Sato T. 2004. Cellular function of calcium-independent phospholipase A₂. *Biol Pharm Bull*, 27 (8):1174-1178.
- Albers M, Meurer H, Marki F, Klotz J. 1993. Phospholipase A₂ activity in serum of neuroleptic-naïve psychiatric inpatients. *Pharmacopsychiatry*, 26 (3):94-98.
- Andreasen NC. 1983. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms. The University of Iowa; Iowa City (USA).
- Andreasen NC. 1996. Pieces of the schizophrenia puzzle fall into place. *Neuron*, 16 (4):697-700.
- Bayer TA, Buslei R, Havas L, Falkai P. 1999. Evidence for activation of microglia in patients with psychiatric illnesses. *Neurosci Lett*, 271:126-128.
- Bazan NG. 2003. Synaptic lipid signaling: significance of polyunsaturated fatty acids and platelet-activating factor. *Journal of Lipid Research*, 44:2221-2233.
- Bazan NG. 2005. Lipid signaling in neural plasticity, brain repair, and neuroprotection. *Mol Neurobiol*. 32(1):89-103.
- Bazan NG, Packard MG, Teather L, Allan G. 1997. Bioactive lipids in excitatory neurotransmission and neuronal plasticity. *Neurochemistry International* 30(2):225-231.
- Beckmann H. 2002. Morphometric studies of the entorhinal cortex in neuropsychiatric patients and controls: clusters of heterotopically displaced lamina II neurons are not indicative of schizophrenia [Schizophrenia Research 33 (1998) 125-132]. *Schizophr Res*, 57 (1):121-122.
- Beckmann H, Jakob H. 1994. [Prenatal developmental disorders of brain structures in schizophrenic psychoses]. *Nervenarzt*, 65 (7):454-463.
- Bennett ER, Yedgar S, Lerer B, Ebstein RP. 1991. Phospholipase A₂ activity in Epstein-Barr virus-transformed lymphoblast cells from schizophrenic patients. *Biol Psychiatry*, 29 (11):1058-1062.
- Berger GE, Wood SJ, Pantelis C, Velakoulis D, Wellard RM, McGorry PD. 2002. Implications of lipid biology for the pathogenesis of schizophrenia. *Aust N Z J Psychiatry*, 36(3):355-366.
- Berger M. 2004. Psychische Erkrankungen : Klinik und Therapie - 2., vollst. neu bearb. und erw. Aufl.. - München ; Jena : Urban und Fischer.
- Bilder RM, Mukherjee S, Rieder RO, Pandurangi AK. 1985. Symptomatic and neuropsychological components of defect states. *Schizophr Bull*, 11 (3):409-419.

- Bleuler E. 1911. *Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*. Deuticke, Leipzig – Wien.
- Brown AS, Susser ES, Butler PD, Richardson Andrews R, Kaufmann CA, Gorman JM. 1996. Neurobiological plausibility of prenatal nutritional deprivation as a risk factor for schizophrenia. *J Nerv Ment Dis*, 184 (2):71-85.
- Cahn W, van Haren NE, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Caspers E, Laponder DA, Kahn RS. 2006. Brain volume changes in the first year of illness and 5-year outcome of schizophrenia. *Br J Psychiatry*, 189:381-382.
- Camandola S, Poli G, Mattson MP. 2000. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2,3-nonenal increases AP-1-binding activity through caspase activation in neurons. *J Neurochem*, 74 (1):159-168.
- Carlsson A. 2006. The neurochemical circuitry of schizophrenia. *Pharmacopsychiatry*, 39 Suppl 1:S10-14.
- Chowdari KV, Brandstaetter B, Semwal P, Bhatia T, Deshpande S, Reddy R, Wood J, Weinberg CR, Thelma BK, Nimgaonkar VL. 2001. Association studies of cytosolic phospholipase A₂ polymorphisms and schizophrenia among two independent family-based samples. *Psychiatr Genet*, 11 (4):207-212.
- Christensen O, Christensen E. 1988. Fat consumption and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*, 78 (5):587-591.
- Davis JM, Casper R. 1977. Antipsychotic drugs: clinical pharmacology and therapeutic use. *Drugs*, 14 (4):260-282.
- Deister A, Marneros A. 1994. Subtypes in schizophrenic disorders: frequencies in long-term-course and premorbid features. *Soc.Psychiatry Psychiatric Epidem* 28: 164-171.
- DeLisi LE, Sakuma M, Maurizio AM, Relja M, Hoff AL. 2004. Cerebral ventricular change over the first 10 years after the onset of schizophrenia. *Psychiatry Res*, 130 (1):57-70.
- DeLisi LE, Sakuma M, Tew W, Kushner M, Hoff AL, Grimson R. 1997. Schizophrenia as a chronic active brain process: a study of progressive brain structural change subsequent to the onset of schizophrenia. *Psychiatry Res*, 74 (3):129-140.
- Doris AB, Wahle K, MacDonald A, Morris S, Coffey I, Muir W, Blackwood D. 1998. Red cell membrane fatty acids, cytosolic phospholipase-A₂ and schizophrenia. *Schizophr Res*, 31 (2-3):185-196.
- Emoto K, Toyama-Sorimachi N, Karasuyama H, Inoue K, Umeda M. 1997. Exposure of phosphatidylethanolamine on the surface of apoptotic cells. *Exp Cell Res*, 232 (2):430-434.
- Falkai P, Honer WG, Alfter D, Schneider-Axmann T, Bussfeld P, Cordes J, Blank B, Schonell H, Steinmetz H, Maier W, Tepest R. 2002. The temporal lobe in schizophrenia from uni- and multiply affected families. *Neurosci Lett*, 325 (1):25-28.
- Falkai P, Honer WG, David S, Bogerts B, Majtenyi C, Bayer TA. 1999. No evidence for astrogliosis in brains of schizophrenic patients. A post-mortem study. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 25 (1):48-53.
- Farooqui AA, Horrocks LA. 1994. Excitotoxicity and neurological disorders: involvement of membrane phospholipids. *Int Rev Neurobiol*, 36:267-323.
- Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T. 2000. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions and involvement in neurological disorders. *Chem Phys Lipids*, 106:1-29.
- Farooqui AA, Ong WY, Horrocks LA. 2004. Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involvement of neural membrane phospholipids and phospholipases A₂. *Neurochem Res*, 29 (11):1961-1977.

- Feinberg I. 1992. Neurodevelopmental model of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 32 (2):212-213.
- Fenton WS, Hibbeln J, Knable M. 2000. Essential fatty acids, lipid membrane abnormalities, and the diagnosis and treatment of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 47 (1):8-21.
- Freedman A. 1984. *Psychiatrie in Praxis und Klinik*. In 7 Bänden. Band 1: Schizophrenie, affektive Erkrankungen, Verlust und Trauer. Stuttgart ; New York : Thieme Verlag.
- Frieboes RM, Moises HW, Gattaz WF, Yang L, Li T, Liu X, Vetter P, Macciardi F, Hwu HG, Henn F. 2001. Lack of association between schizophrenia and the phospholipase-A(2) genes cPLA₂ and sPLA₂. *Am J Med Genet*, 105 (3):246-249.
- Gastpar MT, Kasper S, Linden M. 2003. *Psychiatrie und Psychotherapie*. 2., vollständig neu bearbeitete Auflage. Wien ; New York : Springer.
- Gattaz WF, Brunner J. 1996. Phospholipase A₂ and the hypofrontality hypothesis of schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 55 (1-2):109-113.
- Gattaz WF, Brunner J, Schmitt A, Maras A. 1994. [Accelerated breakdown of membrane phospholipids in schizophrenia--implications for the hypofrontality hypothesis]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 62 (12):489-496.
- Gattaz WF, Hubner CV, Nevalainen TJ, Thuren T, Kinnunen PK. 1990. Increased serum phospholipase A2 activity in schizophrenia: a replication study. *Biol Psychiatry*, 28 (6):495-501.
- Gattaz WF, Kollisch M, Thuren T, Virtanen JA, Kinnunen PK. 1987. Increased plasma phospholipase A₂ activity in schizophrenic patients: reduction after neuroleptic therapy. *Biol Psychiatry*, 22 (4):421-426.
- Gattaz WF, Nevalainen TJ, Kinnunen PK. 1990. [Possible involvement of phospholipase A2 in the pathogenesis of schizophrenia]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 58 (4):148-153.
- Gattaz WF, Schmitt A, Maras A. 1995. Increased platelet phospholipase A₂ activity in schizophrenia. *Schizophr Res*, 16 (1):1-6.
- Gelb MH, Lambeau G, Maxey K. 2003. PLA₂: A Short Phospholipase Review. *Cayman Chemical*. Issue 14: 7-9.
- Goldman HH, Skodol AE, Lave TR. 1992. Revising axis V for DSM-IV: a review of measures of social functioning. *Am J Psychiatry*, 149 (9):1148-1156.
- Häfner H. 1995. *Was ist Schizophrenie?* Fischer Verlag: Stuttgart, Jena, New York.
- Häfner H. 2000. Epidemiology of schizophrenia. A thriving discipline at the turn of the century. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 250 (6):271-273.
- Häfner H, an der Heiden W. 1997. Epidemiology of schizophrenia. *Can J Psychiatry*, 42 (2):139-151.
- Häfner H, an der Heiden W. 1999. The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 249 Suppl.4: 14-26.
- Häfner H, an der Heiden W, et al. 1998. Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia. *Schizophr Bull* 24(1): 99-113.
- Harrison PJ. 1999. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122 (Pt 4):593-624.
- Hauteclouverture S, Limosin F, et al. 2006. Epidemiology of schizophrenic disorders. *Presse Med* 35(3 Pt 2): 461-468.
- Hiller W, Dichtl G, Hecht H, Hundt W, von Zerssen D. 1993. An empirical comparison of diagnoses and reliabilities in ICD-10 and DSM-III-R. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 242 (4):209-217.
- Horrobin DF. 1998. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res*, 30 (3):193-208.
- Horrobin DF, Glen AI, Vaddadi K. 1994. The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Res*, 13 (3):195-207.

- Hubl D, Koenig T, Strik W, Federspiel A, Kreis R, Boesch C, Maier SE, Schroth G, Lovblad K, Dierks T. 2004. Pathways that make voices: white matter changes in auditory hallucinations. *Arch Gen Psychiatry* 61 (7): 658-668.
- Hudson CJ, Gotowiec A, Seeman M, Warsh J, Ross BM. 1999. Clinical subtyping reveals significant differences in calcium-dependent phospholipase A₂ activity in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 46 (3):401-405.
- Hudson CJ, Kennedy JL, Gotowiec A, Lin A, King N, Gojtan K, Macciardi F, Skorecki K, Meltzer HY, Warsh JJ, Horrobin DF. 1996a. Genetic variant near cytosolic phospholipase A₂ associated with schizophrenia. *Schizophr Res*, 21 (2):111-116.
- Hudson CJ, Lin A, Horrobin DF. 1996b. Phospholipases: in search of a genetic base of schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 55 (1-2):119-122.
- Jablensky A. 1995. Schizophrenia: recent epidemiologic issues. *Epidemiol Rev*, 17 (1):10-20.
- Jensen JE, Miller J, Williamson PC, Neufeld RW, Menon RS, Malla A, Manchanda R, Schaefer B, Densmore M, Drost DJ. 2006. Grey and white matter differences in brain energy metabolism in first episode schizophrenia: ³¹P-MRS chemical shift imaging at 4 Tesla. *Psychiatry Res*, 146 (2):127-135.
- Junqueira R, Cordeiro Q, Meira-Lima I, Gattaz WF, Vallada H. 2004. Allelic association analysis of phospholipase A2 genes with schizophrenia. *Psychiatr Genet*, 14 (3):157-160.
- Katila H, Appelberg B, Rimon R. 1997. No differences in phospholipase A₂ activity between acute psychiatric patients and controls. *Schizophr Res*, 26 (2-3):103-105.
- Keshavan MS. 1999. Development, disease and degeneration in schizophrenia: a unitary pathophysiological model.
- Keshavan MS, Stanley JA, Pettegrew JW. 2000. Magnetic resonance spectroscopy in schizophrenia: methodological issues and findings--part II. *Biol Psychiatry* 48(5):369-380.
- Klinke R, Silbernagl S. 2001. *Lehrbuch der Physiologie - 3., vollst. überarb. Aufl..* - Stuttgart; New York : Thieme Verlag.
- Kraepelin E. 1919. *Dementia Praecox and Paraphrenia*. Aufl. New York: Robert E Krieger 1971.
- Lasch J, Willhardt I, Kinder D, Sauer H, Smesny S. 2003. Fluorometric Assays of Phospholipase A2 Activity with Three Different Substrates in Biological Samples of Patients with Schizophrenia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 41 (7):908-914.
- Law MH, Cotton RG, Berger GE. 2006. The role of phospholipases A₂ in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 11 (6):547-556.
- Lawrie SM, Buechel C, Whalley HC, Frith CD, Friston KJ, Johnstone EC. 2002. Reduced frontotemporal functional connectivity in schizophrenia associated with auditory hallucinations. *Biol Psychiatry* 51 (12): 1008-1011.
- Löffler G. 2003. *Biochemie und Pathobiochemie: mit 218 Tabellen*. 7., völlig neu bearbeitete Auflage – Berlin; Heidelberg; New York; Hongkong; London; Mailand; Paris; Tokio: Springer Verlag.
- Macdonald DJ, Boyle RM, Glen AC, Ross BM, Glen AI, Ward PE, McKinney SB, Peterkin MA. 2004. The investigation of cytosolic phospholipase A₂ using ELISA. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 70 (4):377-381.
- Mahadik SP, Evans DR. 2003. Is schizophrenia a metabolic brain disorder? Membrane phospholipid dysregulation and its therapeutic implications. *Psychiatr Clin North Am*, 26 (1):85-102.
- Mahadik SP, Evans DR, Lal H. 2001. Oxidative stress and role of antioxidant and omega-3 essential fatty acid supplementation in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 25 (3):463-493.

- Mahadik SP, Scheffer RE. 1996. Oxidative injury and potential use of antioxidants in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 55 (1-2):45-54.
- Marneros A, Deister A, Rohde A. 1991. [Affective, schizoaffective and schizophrenic psychoses. A comparative long-term study]. *Monogr Gesamtgeb Psychiatr Psychiatry Ser*, 65:1-454.
- Marneros A, Rohde A, Deister A. 1995. Validity of the negative/positive dichotomy of schizophrenic disorders under long-term conditions. *Psychopathology* 28:32-37.
- McCreadie RG. 1997. The Nithsdale Schizophrenia Surveys. 16. Breast-feeding and schizophrenia: preliminary results and hypotheses. *Br J Psychiatry*, 170:334-337.
- McLean LR, Hagaman KA, Davidson WS. 1993. Role of lipid structure in the activation of phospholipase A₂ by peroxidized phospholipids. *Lipids*, 28:505-509.
- McNeil TF, Cantor-Graae E, Ismail B. 2000. Obstetric complications and congenital malformation in schizophrenia. *Brain Res Rev*. 31: 166-178.
- Möller HJ. 2003. *Psychiatrie und Psychotherapie - 2., neu bearb. und erg. Aufl.* - Berlin ; Heidelberg ; New York ; Hongkong ; London ; Mailand ; Paris ; Tokio : Springer Verlag.
- Mukerjee S, Mahadik SP, Scheffer R, Correnti EE, Kelkar H. 1996. Impaired antioxidant defense at the onset of psychosis. *Schizophr Res*, 19 (1):19-26.
- Naber D, Lambert M. 2004. *Schizophrenie*. Stuttgart; New York: Thieme Verlag.
- Nasrallah HA, Smeltzer DJ. 2003. *Contemporary Diagnosis and Management of the Patient with Schizophrenia*. Aufl. Newton, Pennsylvania.
- Noponen M, Sanfilipo M, Samanich K, Ryer H, Ko G, Angrist B, Wolkin A, Duncan E, Rotrosen J. 1993. Elevated PLA₂ activity in schizophrenics and other psychiatric patients. *Biol Psychiatry*, 34 (9):641-649.
- Norman M. 1996. Malformations of the brain. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*.
- Nüchterlein KH, Dawson ME, Ventura J, Gitlin M, Subotnik KL, Snyder KS, Mintz J, Bartzokis G. 1994. The vulnerability/stress model of schizophrenic relapse: a longitudinal study. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 382:58-64.
- Okubo Y, Saijo T, Oda K. 2001. A review of MRI studies of progressive brain changes in schizophrenia. *J Med Dent Sci*, 48 (3):61-67.
- Overall JE, Gorham DR. 1962. The Brief Psychiatric Rating Scale. *Psychological Reports*, 10:799-812.
- Pae CU, Yu HS, Lee KU, Kim JJ, Lee CU, Lee SJ, Jun TY, Lee C, Paik IH. 2004. BanI polymorphism of the cytosolic phospholipase A₂ gene may confer susceptibility to the development of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28 (4):739-741.
- Pangerl AM, Steudle A, Jaroni HW, Rufer R, Gattaz WF. 1991. Increased platelet membrane lysophosphatidylcholine in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 30 (8):837-840.
- Peet M. 2002. Essential fatty acids: theoretical aspects and treatment implications for schizophrenia and depression. *Advances in Psychiatric Treatment*, 8:223-229.
- Peet M, Brind J, Ramchand CN, Shah S, Vankar GK. 2001. Two double-blind placebo-controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res*, 49 (3):243-251.
- Peet M, Laugharne JD, Mellor J, Ramchand CN. 1996. Essential fatty acid deficiency in erythrocyte membranes from chronic schizophrenic patients, and the clinical effects of dietary supplementation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 55 (1-2):71-75.
- Peet M, Ramchand CN, Lee J, Telang SD, Vankar GK, Shah S, Wei J. 1998. Association of the Ban I dimorphic site at the human cytosolic phospholipase A₂ gene with schizophrenia. *Psychiatr Genet*, 8 (3):191-192.

- Peet M, Stokes C. 2005. Omega-3 fatty acids in the treatment of psychiatric disorders. *Drugs*, 65 (8):1051-1059.
- Piomelli D. 1993. Arachidonic acid in cell signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 5:274-280.
- Pogue-Geile MF, Zubin J. 1988. Negative symptomatology and schizophrenia: A conceptual and empirical review. *Int J Ment Health* 16:3-45.
- Price SA, Fox H, St Clair D, Shaw DJ. 1997. Lack of association between schizophrenia and a polymorphism close to the cytosolic phospholipase A₂ gene. *Psychiatr Genet*, 7 (3):111-114.
- Puri BK, Richardson AJ. 1998. Sustained remission of positive and negative symptoms of schizophrenia following treatment with eicosapentaenoic acid. *Arch Gen Psychiatry*, 55 (2):188-189.
- Ramchand CN, Wei J, Lee KH, Peet M. 1999. Phospholipase A2 gene polymorphism and associated biochemical alterations in schizophrenia. *Phospholipid Spectrum Disorder in Psychiatry*. Carnforth: Marius Press, 1999: 31-38.
- Reddy R, Keshavan M, Yao JK. 2003. Reduced plasma antioxidants in first-episode patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, 62 (3):205-212.
- Ross BM, Hudson C, Erlich J, Warsh JJ, Kish SJ. 1997. Increased phospholipid breakdown in schizophrenia. Evidence for the involvement of a calcium-independent phospholipase A2 [see comments]. *Arch Gen Psychiatry*, 54 (5):487-494.
- Ross BM, Turenne S, Moszczynska A, Warsh JJ, Kish SJ. 1999. Differential alteration of phospholipase A₂ activities in brain of patients with schizophrenia. *Brain Res*, 821 (2):407-413.
- Salgo MG, Corongiu FP, Sevanian A. 1993. Enhanced interfacial catalysis and hydrolytic specificity of phospholipase A₂ toward peroxidized phosphatidylcholine vesicles. *Arch Biochem Biophys*, 304 (1):123-132.
- Sapirstein A, Spech RA, Witzgall R, Bonventre JV. 1996. Cytosolic phospholipase A2 (PLA2), but not secretory PLA₂, potentiates hydrogen peroxide cytotoxicity in kidney epithelial cells. *J Biol Chem*, 271 (35):21505-21513.
- Schulze RM, Muller WE, Gattaz WF. 1988. A radioenzymatic assay for the determination of phospholipase A₂ in serum suitable for psychiatric and non-psychiatric patients. *Pharmacopsychiatry*, 21 (6):348-349.
- Seeman MV, Lang M. 1990. The role of estrogens in schizophrenia gender differences. *Schizophrenia Bulletin*, 16 (2): 185-194.
- Seidman LJ, Pantelis C, Keshavan MS, Faraone SV, Goldstein JM, Horton NJ, Makris N, Falkai P, Caviness VS, Tsuang MT. 2003. A review and new report of medial temporal lobe dysfunction as a vulnerability indicator for schizophrenia: a magnetic resonance imaging morphometric family study of the parahippocampal gyrus. *Schizophr Bull*, 29 (4):803-830.
- Six DA, Dennis EA. 2001. The expanding superfamily of phospholipase A2 enzymes: classification and characterisation. *Biochem Biophys Acta*, 1488:1-19.
- Skosnik PD, Yao JK. 2003. From membrane phospholipid defects to altered neurotransmission: is arachidonic acid a nexus in the pathophysiology of schizophrenia? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 69 (6):367-384.
- Smesny S, Kinder D, Willhardt I, Rosburg T, Lasch J, Berger G, Sauer H. 2005. Increased calcium-independent phospholipase A₂ activity in first episode but not in multi-episode chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry* 57: 399-405.
- Smesny S, Milleit B, Nenadic I, Kinder D, Sauer H, et al. 2008. Structural brain changes in schizophrenia associated with PLA₂-Activity. *American Journal of Psychiatry*. In Revision.

- Smesny S, Volz HP, Riehemann S, Sauer H. 2000. Störungen im Phospholipidmetabolismus als mögliche pathogenetische Faktoren der Schizophrenie - Zusammenfassung aktueller Befunde und kritische Würdigung. *Fortschritte der Neurologie und Psychiatrie*, 68 (7):301-312.
- Sobell JL, Mikesell MJ, McMurray CT. 2002. Genetics and etiopathophysiology of schizophrenia. *Mayo Clin Proc*, 77 (10):1068-1082.
- Stanley JA, Pettegrew JW, Keshavan MS. 2000. Magnetic resonance spectroscopy in schizophrenia: methodological issues and findings--part I. *Biol Psychiatry* 48(5):357-368.
- Strauss JS, Carpenter WT jr, Bartko JJ. 1974. The diagnosis and understanding of schizophrenia: Part III. Speculations on the process that underlie schizophrenic symptoms and signs. *Schizophr. Bull* 11: 61-76.
- Sun GY, Xu J, Jensen MD, Simonyi A. 2004. Phospholipase A₂ in the central nervous system: implications for neurodegenerative diseases. *Lipid Res*, 45 (2):205-213.
- Taketo MM, Sonoshita M. 2002. Phospholipase A₂ and apoptosis. *Biochim Biophys Acta*, 1585 (2-3):72-76.
- Tao R, Yu Y, Zhang X, Guo Y, Shi J, Xie L, Liu S, Ju G, Xu Q, Shen Y, Wei J. 2005. Cytosolic PLA₂ genes possibly contribute to the etiology of schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 137 (1):56-58.
- Tavares H, Yacubian J, Talib LL, Barbosa NR, Gattaz WF. 2003. Increased phospholipase A₂ activity in schizophrenia with absent response to niacin. *Schizophr Res*, 61 (1):1-6.
- Thuren T, Virtanen JA, Lalla M, Kinnunen PK. 1985. Fluorometric assay for phospholipase A₂ in serum. *Clin Chem*, 31 (5):714-717.
- Trzeciak HI, Kalacinski W, Malecki A, Kokot D. 1995. Effect of neuroleptics on phospholipase A₂ activity in the brain of rats. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 245 (3):179-182.
- van Os J, Pedersen CB, Mortensen PB. 2004. Confirmation of synergy between urbanicity and familial liability in the causation of psychosis. *Am J Psychiatry*, 161 (12):2312-2314.
- Vogeley K, Schneider-Axmann T, Pfeiffer U, Tepest R, Bayer TA, Bogerts B, Honer WG, Falkai P. 2000. Disturbed gyrification of the prefrontal region in male schizophrenic patients: A morphometric postmortem study. *Am J Psychiatry*, 157 (1):34-39.
- Wakabayashi S, Freed LM, Bell JM, Rapoport SI. 1994. In vivo cerebral incorporation of radiolabeled fatty acids after acute unilateral orbital enucleation in adult hooded Long-Evans rats. *J Cereb Blood Flow Metab*, 14 (2):312-323.
- Wei J, Hemmings GP. 2004. A study of a genetic association between the PTGS2/PLA2G4A locus and schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 70 (4):413-415.
- Wei J, Hemmings GP. 2005. A study of the combined effect of the CLDN5 locus and the genes for the phospholipid metabolism pathway in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 73 (6):441-445.
- Wei J, Lee KH, Hemmings GP. 1998. Is the cPLA₂ gene associated with schizophrenia? *Mol Psychiatry*, 3 (6):480-481.
- Weinberger DR, Lipska BK. 1995. Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground.
- Williamson P, Schlegel RA. 2002. Transbilayer phospholipid movement and the clearance of apoptotic cells. *Biochim Biophys Acta*, 1585 (2-3):53-63.
- Wittchen H-U, Zaudig M, Fydrich T. 1997. *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*. Göttingen, Hogrefe Verlag.

- Wolkin A, Angrist B, Wolf A, Brodie J, Wolkin B, Jaeger J, Cancro R, Rotrosen J. 1987. Effects of amphetamine on local cerebral metabolism in normal and schizophrenic subjects as determined by positron emission tomography. *Psychopharmacology (Berl)*, 92 (2):241-246.
- Woods. 1998. Is Schizophrenia a progressive neurodevelopmental disorder? Toward a unitary pathogenetic mechanism. *Am J Psychiatry* 155:12.
- Yang HC, Mosior M, Johnson CA, Chen Y, Dennis EA. 1999. Group-specific assays that distinguish between the four major types of mammalian phospholipase A₂. *Anal Biochem*, 269 (2):278-288.
- Yao JK, Leonard S, Reddy RD. 2000. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr Res*, 42 (1):7-17.
- Yedgar S, Lichtenberg D, Schnitzer E. 2000. Inhibition of phospholipase A(2) as a therapeutic target. *Biochim Biophys Acta*, 1488 (1-2):182-187.
- Yu YQ, Tao R, Wei J, Xu Q, Liu SZ, Ju GZ, Shi JP, Zhang X, Xie L, Shen Y. 2004. No association between the PTGS2/PLA₂G4A locus and schizophrenia in a Chinese population. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 71 (6):405-408.
- Zobel A, Maier W. 2004. Endophänotypen – ein neues Konzept zur biologischen Charakterisierung psychischer Störungen. *Nervenarzt* 75 (3): 205-214.

8. ANHANG

8.1. Erhebungsbögen der Psychopathologie

8.1.1. Erhebungsbogen der BPRS

Datum:							
<i>Orientierende psychiatrische Fremdbeurteilungsskala (BPRS)</i>							
Patientencode:		erhoben von:					
1=not present, 2=very mild, 3=mild, 4=moderate, 5=moderately severe, 6=severe, 7=extremely severe							
1. Somatic concern	1	2	3	4	5	6	7
2. Anxiety	1	2	3	4	5	6	7
3. Depression	1	2	3	4	5	6	7
4. Suicidality	1	2	3	4	5	6	7
5. Guilt	1	2	3	4	5	6	7
6. Hostility	1	2	3	4	5	6	7
7. Elated Mood	1	2	3	4	5	6	7
8. Grandiosity	1	2	3	4	5	6	7
9. Suspiciousness	1	2	3	4	5	6	7
10. Hallucinations	1	2	3	4	5	6	7
11. Unusual thought content	1	2	3	4	5	6	7
12. Bizarre behaviour	1	2	3	4	5	6	7
13. Self-neglect	1	2	3	4	5	6	7
14. Disorientation	1	2	3	4	5	6	7
15. Conceptual disorganisation	1	2	3	4	5	6	7
16. Blunted affect	1	2	3	4	5	6	7
17. Emotional withdrawal	1	2	3	4	5	6	7
18. Motor retardation	1	2	3	4	5	6	7
19. Tension	1	2	3	4	5	6	7
20. Uncooperativeness	1	2	3	4	5	6	7
21. Excitement	1	2	3	4	5	6	7
22. Distractibility	1	2	3	4	5	6	7
23. Motor hyperactivity	1	2	3	4	5	6	7
24. Manirism and posturing	1	2	3	4	5	6	7
Negative Subskala 1:	Item 16, 17						
Negative Subskala 2:	Item 14, 16, 17, 18, 20						
Positive Subskala 1:	Item 9, 10, 11, 15						
Positive Subskala 2:	Item 6, 8, 9, 10, 11, 15, 21, 24						
Mood Subskala:	Item 1, 2, 3, 5						
Gesamt:							

8.1.2. Erhebungsbogen der SANS

Datum:						
<i>Fremdbeurteilungsskala für negativsymptomatische Items (SANS)</i>						
Patientencode:		erhoben von:				
0=nicht vorhanden, 1=fraglich, 2=leicht, 3=mäßig, 4=ausgeprägt, 5=schwer						
Affektverflachung						
1. Starrer Gesichtsausdruck	0	1	2	3	4	5
2. Verminderte Spontanbewegung	0	1	2	3	4	5
3. Armut der Ausdrucksbewegungen	0	1	2	3	4	5
4. Geringer Augenkontakt	0	1	2	3	4	5
5. Fehlende affektive Auslenkbarkeit	0	1	2	3	4	5
6. Unangemessener Affekt	0	1	2	3	4	5
7. Mangel an sprachlicher Ausdrucksfähigkeit	0	1	2	3	4	5
8. Globale Beurteilung der affektiven Verminderung	0	1	2	3	4	5
Alogie						
9. Verarmung der Sprechweise	0	1	2	3	4	5
10. Verarmung des Gesprächsinhaltes	0	1	2	3	4	5
11. Gedankenabreißen	0	1	2	3	4	5
12. Erhöhte Antwortlatenz	0	1	2	3	4	5
13. Globale Beurteilung der Alogie	0	1	2	3	4	5
Abulie-Apathie						
14. Pflege und Hygiene	0	1	2	3	4	5
15. Unstetigkeit in Beruf und Ausbildung	0	1	2	3	4	5
16. Körperliche Energielosigkeit	0	1	2	3	4	5
17. Globale Beurteilung der Abulie / Apathie	0	1	2	3	4	5
Anhedonie - sozialer Rückzug						
18. Freizeitvergnügen und Aktivitäten	0	1	2	3	4	5
19. Sexuelles Interesse	0	1	2	3	4	5
20. Fähigkeit Intimität und Nähe zu fühlen	0	1	2	3	4	5
21. Verhältnis zu Verwandten und Freunden	0	1	2	3	4	5
22. Globale Beurteilung Anhedonie	0	1	2	3	4	5
Aufmerksamkeit						
23. Soziale Unaufmerksamkeit	0	1	2	3	4	5
24. Aufmerksamkeit während der Testung	0	1	2	3	4	5
25. Globale Beurteilung der Aufmerksamkeit	0	1	2	3	4	5
Gesamt:						

8.1.3. Erhebungsbogen der PANSS

Datum:							
<i>Fremdbeurteilungsinstrument für positiv- und negativsymptomatische Items (PANSS)</i>							
Patientencode:				erhoben von:			
1=fehlt, 2=minimal, 3=leicht, 4=mäßig, 5=mäßig schwer, 6=schwer, 7=extrem							
Positive Subskala							
P1. Wahnideen	1	2	3	4	5	6	7
P2. formale Denkstörung	1	2	3	4	5	6	7
P3. Halluzination	1	2	3	4	5	6	7
P4. Erregung	1	2	3	4	5	6	7
P5. Größenwahn	1	2	3	4	5	6	7
P6. Misstrauen/ Verfolgungswahn	1	2	3	4	5	6	7
P7. Feindseligkeit	1	2	3	4	5	6	7
Negative Subskala							
N1. Affektverflachung	1	2	3	4	5	6	7
N2. emotionaler Rückzug	1	2	3	4	5	6	7
N3. mangelnder affektiver Rapport	1	2	3	4	5	6	7
N4. soziale Passivität und Apathie	1	2	3	4	5	6	7
N5. Schwierigkeiten beim abstrakten Denken	1	2	3	4	5	6	7
N6. Mangel an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache	1	2	3	4	5	6	7
N7. stereotype Gedanken	1	2	3	4	5	6	7
Allgemeine Psychopathologie Subskala							
G1. Sorge um die Gesundheit	1	2	3	4	5	6	7
G2. Angst	1	2	3	4	5	6	7
G3. Schuldgefühle	1	2	3	4	5	6	7
G4. Anspannung	1	2	3	4	5	6	7
G5. Manirismen und unnatürliche Körperhaltung	1	2	3	4	5	6	7
G6. depressive Verstimmung	1	2	3	4	5	6	7
G7. motorische Verlangsamung	1	2	3	4	5	6	7
G8. unkooperatives Verhalten	1	2	3	4	5	6	7
G9. ungewöhnliche Denkinhalte	1	2	3	4	5	6	7
G10. Desorientiertheit	1	2	3	4	5	6	7
G11. mangelnde Aufmerksamkeit	1	2	3	4	5	6	7
G12. Mangel an Urteilsfähigkeit und Einsicht	1	2	3	4	5	6	7
G13. Willensschwäche	1	2	3	4	5	6	7
G14. mangelnde Impulskontrolle	1	2	3	4	5	6	7
G15. Selbstbezogenheit	1	2	3	4	5	6	7
G16. aktives soziales Vermeidungsverhalten	1	2	3	4	5	6	7
Gesamt:							

8.1.4. Erhebungsbogen der GAF

Datum:	
Skala zur Globalen Erfassung des Funktionsniveaus (GAF)	
Die psychischen, sozialen und beruflichen Funktionen sind auf einem hypothetischen Kontinuum von psychischer Gesundheit bis Krankheit gedacht. Funktionsbeeinträchtigungen aufgrund von körperlichen (oder umgebungsbedingten) Einschränkungen sollten nicht einbezogen werden. Beachte: Benutze auch entsprechende Zahlenwerte, z.B. 45, 68, 72.	
Patientencode:	erhoben von:
100 – 91	Keine Symptome, kommt in einem weiten Bereich von Aktivitäten hervorragend zurecht, Probleme des Lebens scheinen niemals außer Kontrolle zu geraten, andere wenden sich an ihn wegen seiner Warmherzigkeit und Integrität.
90 – 81	Keine oder nur minimale Symptome (z.B. leichte Angst vor einer Prüfung), gute Leistungsfähigkeit in allen Gebieten, interessiert und eingebunden in ein breites Spektrum von Aktivitäten, sozial effektiv im Verhalten, im allgemein zufrieden mit dem Leben, übliche Alltagsprobleme oder -sorgen (z.B. nur gelegentlicher Streit mit einem Familienmitglied).
80 – 71	Wenn Symptome vorliegen, sind dies vorübergehende oder zu erwartende Reaktionen auf psychosoziale Belastungsfaktoren (z.B. Konzentrationsschwierigkeiten nach einem Familienstreit); höchstens leichte Beeinträchtigung der sozialen beruflichen und schulischen Leistungsfähigkeit (z. B. zeitweises Zurückbleiben in der Schule).
70 – 61	Einige leichte Symptome (z.B. depressive Stimmung oder leichte Schlaflosigkeit) ODER einige leichte Schwierigkeiten hinsichtlich der sozialen, beruflichen oder schulischen Leistungsfähigkeit (z. B. gelegentliches Schuleschwänzen oder Diebstahl im Haushalt), aber im allgemeinen relativ gute Leistungsfähigkeit, hat einige wichtige zwischenmenschliche Beziehungen.
60 – 51	Mäßig ausgeprägte Symptome (z.B. Affektverflachung, weitschweifige Sprache, gelegentliche Panikattacken) ODER mäßig ausgeprägte Schwierigkeiten bezüglich der sozialen, beruflichen oder schulischen Leistungsfähigkeit (z. B. wenige Freunde, Konflikte mit Arbeitskollegen, Schulkameraden oder Bezugspersonen).
50 – 41	Ernste Symptome (z. B. Suizidgedanken, schwere Zwangsrituale, häufige Ladendiebstähle) ODER eine Beeinträchtigung der sozialen, beruflichen und schulischen Leistungsfähigkeit (z. B. keine Freunde, Unfähigkeit, eine Arbeitsstelle zu behalten).
40 – 31	Einige Beeinträchtigungen in der Realitätskontrolle oder der Kommunikation (z. B. Sprache zeitweise unlogisch, unverständlich oder belanglos) ODER starke Beeinträchtigung in mehreren Bereichen, z. B. Arbeit oder Schule, familiäre Beziehungen, Urteilsvermögen, Denken oder Stimmung (z. B. ein Mann mit einer Depression vermeidet Freunde, vernachlässigt seine Familie und ist unfähig zu arbeiten; ein Kind schlägt häufig jüngere Kinder, ist zu Hause trotzig und versagt in der Schule).
30 – 21	Das Verhalten ist ernsthaft durch Wahnphänomene oder Halluzinationen beeinflusst ODER ernsthafte Beeinträchtigung der Kommunikation und des Urteilsvermögens (z.B. manchmal inkohärent, handelt grob inadäquat, starkes Eingenommensein von Selbstmordgedanken) und der Leistungsunfähigkeit in fast allen Bereichen (z. B. bleibt den ganzen Tag im Bett, hat keine Arbeit, kein Zuhause und keine Freunde).
20 – 11	Selbst- und Fremdgefährdung (z. B. Selbstmordversuche ohne eindeutige Todesabsicht, häufig gewalttätig, manische Erregung) ODER ist gelegentlich nicht in der Lage, die geringste Hygiene aufrechtzuerhalten (z. B. schmiert mit Kot) ODER grobe Beeinträchtigung der Kommunikation (größtenteils inkohärent oder stumm).
10 – 1	Ständige Gefahr, sich oder andere schwer zu verletzen (z. B. wiederholte Gewaltausübung) ODER anhaltende Unfähigkeit, die minimale persönliche Hygiene aufrechtzuerhalten ODER ernsthafter Selbstmordversuch mit eindeutiger Todesabsicht.
0	Unzureichende Informationen.
Aktuelles Niveau:	

8.1.5. Erhebungsbogen der SOFAS

Datum:	
<i>Skala zur Erfassung des Sozialen und Beruflichen Funktionsniveaus (SOFAS)</i>	
<p>Man stelle sich die soziale und berufliche Funktionsleistung auf einem Kontinuum von ausgezeichnet bis grob beeinträchtigt vor. Sowohl Beeinträchtigungen, die auf körperliche Einschränkungen als auch solche, die auf psychische Beeinträchtigungen zurückgehen, sind einzubeziehen. Um hinzugerechnet zu werden, müssen die Beeinträchtigungen die direkte Folge psychischer und körperlicher Gesundheitsprobleme sein. Die Auswirkungen durch begrenzte Möglichkeiten und durch andere umgebungsbedingte Einschränkungen werden nicht einbezogen. Beachte: Benutze, wenn möglich, Zwischenwerte (z.B. 45, 68, 72).</p>	
Patientencode:	erhoben von:
100 – 91	Hervorragende Funktionsleistung in einem weiten Bereich von Aktivitäten.
90 – 81	Gute Funktionsleistung in allen Bereichen, beruflich und sozial effektiv.
80 – 71	Nur ganz geringe Beeinträchtigungen der sozialen, beruflichen oder schulischen Funktion (z.B. gelegentliche zwischenmenschliche Konflikte, zeitweiliges Zurückbleiben im Schulunterricht).
70 – 61	Einige Schwierigkeiten in den sozialen, beruflichen oder schulischen Funktionen, die jedoch insgesamt gut sind. Hat einige zwischenmenschliche Beziehungen, die von Bedeutung sind.
60 – 51	Mittlere Schwierigkeiten in der sozialen, beruflichen oder schulischen Funktionsleistung (z.B. wenig Freunde, Konflikte mit Schulkameraden oder Arbeitskollegen).
50 – 41	Ernste Beeinträchtigungen der sozialen, beruflichen oder schulischen Funktionen (z.B. keine Freundschaften, kann keine Arbeitsstelle halten).
40 – 31	Starke Beeinträchtigungen in verschiedenen Bereichen wie Arbeit oder Schule sowie in familiären Beziehungen (z.B. ein depressiver Mann, der Freunde meidet, die Familie vernachlässigt und nicht zur Arbeit gehen kann; ein Kind, das häufig jüngere Kinder verprügelt, zu Hause aufsässig ist und die Schule schwänzt).
30 – 21	Fehlende Funktionsleistungen in fast allen Bereichen (z.B. bleibt den ganzen Tag im Bett; hat keine Arbeit, kein Heim und keine Freundschaften).
20 – 11	Kann gelegentlich die minimale persönliche Hygiene nicht einhalten, kommt alleine nicht zurecht.
10 – 1	Dauerhafte Unfähigkeit, die minimale persönliche Hygiene einzuhalten; kann nicht zurechtkommen, ohne anderen oder sich selbst Schaden zuzufügen oder ohne weitreichende Unterstützung von außen (z.B. Pflegedienste oder Aufsicht).
0	Unzureichende Informationen.
Aktuelles Niveau:	

8.2. Lebenslauf

Zur Person

Name: Christina Kunstmann
Adresse: Sophienstraße 33, 07743 Jena
Geburtsdatum: 31.07.1979 in Saalfeld / Saale
Zivilstand: verheiratet, 2 Töchter (2 Jahre / 1 Monat)
E-Mail: Christina_Kunstmann@web.de

Ausbildung

1986 - 1991 Besuch der Werner Seelenbinder Oberschule in Könitz
1991 - 1998 Besuch des Heinrich Böll Gymnasiums in Saalfeld
07 / 1998 Abschluß Abitur
WS 2000 / 01 Beginn des Studiums der Humanmedizin
an der Friedrich-Schiller-Universität zu Jena
09 / 2002 Abschluß Physikum
12 / 2007 Abschluß des Studiums mit dem 2. Staatsexamen

Sprachen

Englisch: fließend in Wort und Schrift
Latein: großes Latinum
Schwedisch: Grundkenntnisse

Beruflich - praktische Tätigkeiten

1998 - 2000 pflegerische Tätigkeit
2002 - 2006 Famulaturen in den Fächern: Innere Medizin, Chirurgie,
Schmerztherapie und Allgemeinmedizin
2004 - 2008 Promotionsstudentin an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der FSU Jena
08 / 06 - 12 / 06 PJ-Tertial Innere Medizin (Thüringen-Kliniken, Rudolstadt)
12 / 06 - 03 / 06 PJ-Tertial Chirurgie (MKG und Kinderchirurgie, FSU Jena)
03 / 06 - 07 / 06 PJ-Tertial Allgemeinmedizin (Arztpraxis Plötner, Bürgel)

Jena, den 01.08.2008,

8.3. Danksagungen

Gedankt sei an dieser Stelle:

Prof. H. Sauer	für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit, diese interessante Fragestellung unter seiner Leitung an der Klinik für Psychiatrie der Friedrich-Schiller-Universität Jena bearbeiten zu dürfen,
OA Dr. S. Smesny	für seine große fachliche Kompetenz, für Zeit, Mühe und Geduld, die er dem Entstehen meiner Arbeit gewidmet hat,
Dr. G. Berger	für die ausgezeichnete Kooperation mit der Universität in Melbourne,
Prof. J. Lasch	für die Möglichkeit in Halle mitarbeiten zu dürfen und die sehr netten und interessanten (fachlichen) Gespräche,
Dr. I. Willhardt	für die Hilfe und geduldigen Erklärungen bei der Datenerhebung und für die besondere und schöne Zeit in Halle,
Frau Kötters	für die nette Atmosphäre und Hilfe bei der Laborarbeit,
meinen lieben Mann Sebastian	für sein besonderes Interesse am Thema, für Geduld, Liebe und Verständnis auch in stimmungsschwankenden Zeiten !
meinen Töchtern Luise & Johanna	dafür, daß ihr da seid und mich mit eurer fröhlichen und energischen Art immer wieder auch an andere wichtige Seiten des Lebens erinnert habt,
meinen Eltern D. u. G. Kunstmann	für ihre liebevolle Unterstützung aller Art ...

8.4. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,

- daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller Universität bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials, sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Prof. Dr. Heinrich Sauer

Dr. Stefan Smesny

- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und daß Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Erhalt der vorgelegten Dissertation stehen,
- daß ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und
- daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 01.08.2008,